

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Morana Roller

6231/N

PRISUTNOST POLICIKLIČKIH AROMATSKIH
UGLJIKOVODIKA U HRANI – PODRIJETLO,
TOKSIČNOST I RIZICI
ZAVRŠNI RAD

Modul: Osnove toksikologije

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Ivana Kmetič

Zagreb, 2016.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Završni rad

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Nutricionizam

Zavod za kemiju i biokemiju

Laboratorij za toksikologiju

PRISUTNOST POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA U HRANI – PODRIJETLO, TOKSIČNOST I RIZICI

Morana Roller, 6231/N

Sažetak: Policiklički aromatski ugljikovodici (eng. *polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAH) su spojevi sveprisutni u hrani, prehrambenom lancu i okolišu. Većina proučavanih PAH-ova ima dokazane štetne učinke na ljude i životinje. Nastaju nepotpunim izgaranjem organskog materijala u prirodi ili pod utjecajem čovjeka. U hranu dospijevaju iz okoliša ili nastaju tijekom procesiranja. Prženje, pečenje i dimljenje hrane najčešći je put nastanka većih količina PAH-ova prisutnih u hrani. Njihovo toksično djelovanje, između ostalog može biti genotoksično, kancerogeno, teratogeno i fototoksično. Rizici od izloženosti PAH-ovima su prepoznati, zbog čega postoje i propisi dozvoljene količine PAH-ova u skupinama namirnica za ljudsku prehranu. Rizici se izražavaju faktorom ekvivalentne toksičnosti (TEF), a sežu od 0,001 do 1. Budući da su prisutni u okolišu i lako nastaju tijekom najčešće korištenih načina prerade hrane, policikličke aromatske ugljikovodike je nužno istraživati kako bi se bolje objasnilo njihovo toksično djelovanje, spriječilo nastajanje i trovanje te smanjili rizici.

Ključne riječi: policiklički aromatski ugljikovodici, sigurnost hrane, kancerogenost, toksičnost

Rad sadrži: 41 stranicu, 1 sliku, 5 tablica, 74 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *Izv. prof. dr. sc. Ivana Kmetić*

Pomoć pri izradi: *dr. sc. Teuta Murati, asistent; mag. ing. Marina Miletić, asistent*

Rad predan: rujna 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Final work

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Nutrition

Department of Chemistry and Biochemistry

Laboratory for Toxicology

PRESENCE OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN FOOD – ORIGIN, TOXICITY AND RISKS

Morana Roller, 6231/N

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are chemical compounds ubiquitous in food, food chain and environment. Most of studied PAHs are proven to have adverse effects on humans and animals. They are formed during the incomplete burning of organic material in the nature, but dominant sources of PAHs in the environment are from human activity. Food can be contaminated by PAHs from the environment or they are formed during food processing. Frying, roasting and smoking food are the most common way of the formation of large quantities of PAHs present in food. Their toxic effects can be genotoxic, carcinogenic, teratogenic and phototoxic. The risks of exposure to PAHs have been identified, which is why there are regulations permitting the amounts of PAHs in the groups of foods for human consumption. Risks are expressed with toxic equivalency factor (TEF) in a range from 0.001 to 1. Since PAHs are widely present in the environment and are readily formed during the most commonly used ways of food processing, it is necessary to explore and further explain their toxic action, in order to prevent the formation and poisoning, and reduce risks.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, food safety, carcinogenicity, toxicity

Thesis contains: 41 pages, 1 figure, 5 tables, 74 references

Original in: Croatian

Final work in printed and electronical (pdf format) **version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *Izv. prof. PhD. Ivana Kmetič*

Technical support and assistance: *PhD. Teuta Murati, Scientific Assistant; MSc. Marina Miletić, Scientific Assistant*

Thesis delivered: September 2016.

Sadržaj:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2. 1. Kemijska i fizikalna svojstva PAH-ova.....	2
2. 2. Detekcija i analiza PAH-ova	3
2. 3. Prirodni i antropogeni izvori PAH-ova	4
2. 3. 1. Prirodni izvori PAH-ova	4
2. 3. 2. Antropogeni izvori PAH-ova	5
2. 3. 3. Prisutnost PAH-ova u zraku.....	7
2. 3. 4. Prisutnost PAH-ova u tlu	9
2. 3. 5. Prisutnost PAH-ova u vodi	10
2. 3. 6. Uklanjanje PAH-ova iz okoliša.....	11
2. 4. Unos PAH-ova hranom	12
2. 4. 1. Ulja i masti	13
2. 4. 2. Povrće	14
2. 4. 3. Žitarice	15
2. 4. 4. Meso i riba	15
2. 4. 5. Kava i čaj	17
2. 4. 6. Konditori	17
2. 4. 7. Ostala hrana i dodaci prehrani	17
2. 4. 8. Prosječan dnevni unos.....	18
2. 4. 9. Unos PAH-ova duhanom	19
2. 4. 10. Djelovanje na smanjenje količine PAH-ova u hrani	19
2. 5. ADME PAH-ova	20
2. 5. 1. Apsorpcija PAH-ova	20
2. 5. 1. 1. Dermalna apsorpcija PAH-ova.....	21
2. 5. 1. 2. Apsorpcija PAH-ova inhalacijom	21
2. 5. 1. 3. Ingestija PAH-ova	21
2. 5. 2. Distribucija PAH-ova.....	22
2. 5. 2. 1. Prolaz PAH-ova kroz barijere	22
2. 5. 2. 1. 1. Hematoencefalna barijera	22
2. 5. 2. 1. 2. Placentalna barijera.....	23

2. 5. 3. Metabolizam PAH-ova	23
2. 5. 3. 1. Biostranformacije faze I	24
2. 5. 3. 2. Biotransformacije faze II.....	25
2. 5. 3. 3. Metaboliziranje PAH-ova kod prokariota	25
2. 5. 4. Izlučivanje PAH-ova.....	26
2. 5. 4. 1. Transfer PAH-ova u kravljje mlijeko	26
2. 5. 4. 2. Biomarkeri.....	26
2. 6. Toksičnost PAH-ova.....	27
2. 6. 1. Akutna toksičnost PAH-ova	27
2. 6. 2. Kronična toksičnost PAH-ova	29
2. 6. 3. Kancerogenost.....	29
2. 6. 4. Genotoksičnost.....	30
2. 6. 5. Teratogenost.....	31
2. 6. 6. Fototoksičnost	32
2. 7. Procjena rizika PAH-ova	32
2. 7. 1. Faktor ekvivalentne toksičnosti PAH-ova	33
3. ZAKLJUČAK.....	34
4. POPIS LITERATURE.....	35

1. UVOD

Tijekom procesiranja, industrijske prerade i skladištenja, pripremanja i podgrijavanja hrane u kućanstvima može doći do kemijskih promjena u namirnicama kod kojih nastaju i kemijski spojevi koji mogu biti nepoželjni. Jedni od tih spojeva su policiklički aromatski ugljikovodici (PAH), organski spojevi koji nastaju termičkom obradom organskog materijala, a nepoželjni su zbog toga što imaju toksično djelovanje. Ti su spojevi jedni od prvih grupa organskih spojeva prepoznatih kao kancerogeni.

Prva opažanja o potencijalnoj štetnosti ovih spojeva počela su kada je Percivall Pott 1775. godine prvi puta ukazao na kancerogene učinke čađe, zbog korelacije između pojave raka testisa i izloženosti čađi tokom ranog djetinjstva. Istraživanja PAH-ova počela su krajem 19. i početkom 20. stoljeća. Butlin je 1892. godine pokazao korelaciju između ostalih rakova kože i izloženosti čađi, nakon čega se provodilo više istraživanja o toksičnim efektima spojeva iz čađe, posebice benz(a)pirena. Godine 1987. Internacionalna agencija za istraživanje raka (*International Agency for Research on Cancer*, IARC) zaključila je da je benz(a)piren kancerogen spoj. Od tada do danas su PAH-ovi proučavani i ispitivani, te se o njima mnogo saznalo. Činjenica da prevladavaju u okolišu, a neki od njih mogu biti kancerogeni privukla je pažnju na PAH-ove te se o njima vodio velik broj istraživanja. Objašnjeno je kako i gdje nastaju, dokazano je toksično djelovanje, prikupljeni su podaci o količini PAH-ova u zraku, rijekama i ostalim vodama, hrani i zemlji, te su pretpostavljene količine unosa PAH-ova kod ljudi iz različitih izvora.

Kao i neki drugi kancerogeni spojevi, PAH-ovi se metaboliziraju tako da nastaju reaktivni intermedijeri koji se mogu vezati na nukleinske kiseline. To je ključan događaj u razvoju tumora, zbog čega su se mnoga istraživanja posvetila istraživanju kancerogenosti PAH-ova. Ta istraživanja mogu služiti u pomnijem objašnjavanju nastajanja tumora potaknutom djelovanjem vanjskih čimbenika. Toksično djelovanje i toksikokinetika PAH-ova su djelomično istraženi i dalje se istražuju, što će biti opisano u ovom radu.

Cilj ovog rada je objasniti načine nastajanja i kemijska svojstva PAH-ova, kao i istražiti poznate podatke o mogućnosti unosa i apsorpcije, distribucije, metaboličkih puteva pregradnje PAH-ova, kao i njihovog izlučivanja. Također, u ovom radu će se razjasniti dosadašnja saznanja o načinu toksičnog djelovanja PAH-ova, objasniti rizike i mogućnosti izbjegavanja trovanja.

2. TEORIJSKI DIO

2. 1. KEMIJSKA I FIZIKALNA SVOJSTVA PAH-OVA

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH, eng. *polycyclic aromatic hydrocarbons*) su organski spojevi ugljika i vodika sastavljeni od dvaju ili više kondenziranih benzenskih prstenova. Prema starijim nomenklaturama su se nazivali poliaranima, polinuklearnim cikličnim ugljikovodicima, ali je već dugo prisutan isključivo naziv policiklički aromatski ugljikovodici.

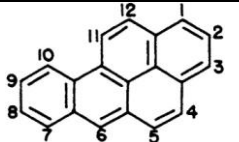
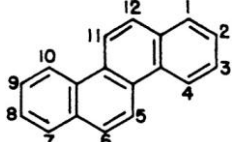
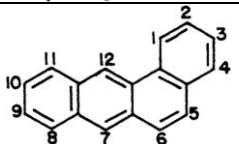
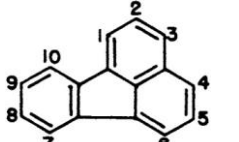
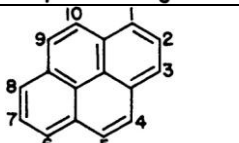
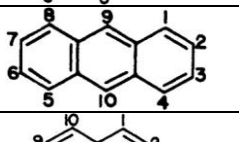
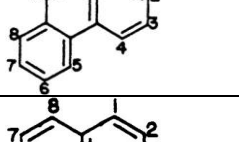
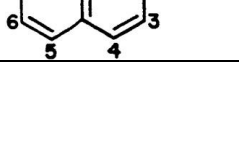
Kao kemijski spoj, policiklički aromatski ugljikovodik je bilo koji spoj građen od ugljika i vodika povezanih u više aromatskih prstenova. Prema tome, spojeva koji su tako građeni može biti beskonačno mnogo. Međutim, samo manji broj pronađen je u prirodi i/ili sintetiziran u laboratoriju, većinom građeni od tri, četiri ili pet prstenova. Iako benzen ima slična kemijska i toksična svojstva kao PAH-ovi, te se može u tom aspektu promatrati kao i PAH-ovi, ne pripada u skupinu PAH spojeva jer ima samo jedan aromatski prsten. Najjednostavniji složeni aromatski ugljikovodik je naftalen, a građen je od 2 povezana aromatska prstena. Po nekim autorima naftalen također nije PAH spoj, već su to samo oni koji imaju 3 ili više prstenova u strukturi. Fenantren i antracen se sastoje od 3 aromatska prstena pa se smatraju najjednostavnijim PAH-ovima (Harvey, 1991). Kemijske strukture, empirijske formule, molekulska masa i imena najčešćih PAH-ova se nalaze u tablici 1.

U PAH-ove manje molekulske mase ubrajaju se oni građeni od 3 aromatska prstena i molekulske mase od 178,23 g/mol. Benzen i naftalen su plinovi pri sobnoj temperaturi, dok su PAH-ovi veće molekulske mase najčešće obojeni kristali pri sobnoj temperaturi. Najčešće proučavani i analizirani PAH-ovi su naftalen, antracen, fenantren, piren, benz(a)piren, benz(a)antracen, benz(k)fluoranten, krisen, benz(b)fluoranten, 7,12-dimetilbenzantracen (DMBA), acenaften, acenaften, fluoren i fluoranten (Harvey, 1991).

Svi PAH-ovi mogu se prikazati u više različitih rezonantnih struktura. Naftalen ima 3 rezonantne strukture, a broj različitih rezonantnih struktura se povećava i s brojem aromatskih prstenova u strukturi spoja. Svi PAH-ovi su, zbog aromatske strukture, izrazito lipofilni, što ima jak utjecaj na to gdje će se taložiti i zadržavati u okolišu. PAH-ovi su slabo topivi u vodi, a topivost u vodi pada s većom molekulskom masom, odnosno s više aromatskih prstenova u strukturi. PAH-ovi su osjetljivi na svjetlo, a rezistentni na toplinu i koroziju. Pokazuju svojstvo fluorescencije i emitiraju svjetlost kada se podignu na viši energetska nivo.

Apsorbiraju u UV spektru, jako specifično se mogu razaznati. Svaki prsten i svaki izomer apsorbira jedinstveno u jednom dijelu spektra (Harvey, 1991).

Tablica 1. Kemijske strukture najčešćih PAH-ova (prema: NRC, 1983)

Naziv spoja	Empirijska formula	Broj aromatskih prstenova	Struktura	Molekulska masa (g/mol)
Benz(a)piren ili BaP	$C_{20}H_{12}$	5		252
Krizen ili Chy	$C_{18}H_{12}$	4		228
Benz(a)antracen ili BaA	$C_{18}H_{12}$	4		228
Fluoranten ili Flt	$C_{16}H_{10}$	4		202,26
Piren ili Pyr	$C_{16}H_{10}$	4		202,25
Antracen ili Ant	$C_{14}H_{10}$	3		178,23
Fenantren ili Phn	$C_{14}H_{10}$	3		178,23
Naftalen ili Nap	$C_{10}H_8$	2		128,17

2. 2. DETEKCIJA I ANALIZA PAH-OVA

Uzorkovanje, detektiranje i određivanje količine PAH-ova jako je bitno u kontroli čistoće i sigurnosti zraka, vode, tla i hrane. Stoga postoje propisi kojima su određeni načini uzorkovanja i kemijske analize za PAH-ove. Propisani su uredbom Europske komisije (br. 333/2007) iz 2007. godine. Kasnije, 2016. je uredba propisana za sve policikličke aromatske ugljikovodike (br. 2016/582).

Uzorkovanje je bitno jer nije uvijek jednaka količina PAH-ova prisutna kroz cijelu namirnicu (sastav nije u potpunosti homogen, kontaminacija može utjecati na smanjenje

(svjetlo) ili povećanje (dodir s dimom ili visoke temperature) količine PAH-ova u uzorku). Materijali kojima se vrši analiza i uzorkovanje moraju biti od stakla, aluminijske ili nehrđajućeg čelika zato što PAH-ovi mogu adsorbirati na plastične, organske materijale. Također, PAH-ovi mogu reagirati s drugim sastojcima hrane, stoga uzorci ne smiju dugo stajati (EFSA, 2008).

Ekstrakcija PAH-ova se vrši ekstrakcijom tekuće-tekuće (LLE, eng. *liquid-liquid extraction*), superkritičnom fluidnom ekstrakcijom (SFE, eng. *supercritic fluid extraction*), ekstrakcijom raspršivanjem uzorka kroz čvrstu fazu (MSPD, eng. *matrix solid phase dispersion*), ultrazvučnom ekstrakcijom (UASE, eng. *ultrasound extraction*), ekstrakcijom na čvrstoj fazi (SPE, eng. *solid phase extraction*), „headspace“ ekstrakcijom (HS) ili PLE ekstrakcijom s povišenim tlakom i temperaturom (PLE, eng. *pressured liquid extraction*) ovisno o tipu namirnice.

Analiza se najčešće vrši plinskom kromatografijom (GC, eng. *gas chromatography*), tekućinskom kromatografijom visoke djelovnosti (HPLC, eng. *high performance liquid chromatography*), fluorescentnom spektroskopijom ili tekućinskom kromatografijom (LC, eng. *liquid chromatography*) (EFSA, 2008; Europska komisija, 2007; Europska komisija, 2016).

2. 3. PRIRODNI I ANTROPOGENI IZVORI PAH-OVA

Osnovni izvori PAH-ova mogu se podijeliti na prirodne i antropogene izvore. Prirodni izvori se odnose na PAH-ove koji nastaju u okolišu prirodno, bez ljudskog djelovanja, a antropogeni su uzrokovani ljudskim djelovanjem.

2. 3. 1. PRIRODNI IZVORI PAH-OVA

PAH-ovi nastaju nepotpunim izgaranjem organske tvari pri temperaturama od 650 – 900 °C i goriva koja nisu visoko oksidirana. Mogu prirodno nastati slučajnim požarima u šumama i vrištinama zbog udara groma, vulkanskim erupcijama te propadanjem organske tvari. Proizvodnja PAH-ova prirodnim putem ovisi o meteorološkim uvjetima kao što su vjetar, temperatura, vlažnost zraka, te vrsti goriva (sadržaj vlage u drvu, vrsta drva, promjene u sastavu drva kroz godišnja doba) (EMEP, 2013; Maliszewska-Kordybach, 1999).

PAH-ovi koji su prisutni u prirodi ne nastaju uvijek pirolizom organskog materijala. Mehanizam kojim se složene smjese PAH-ova javljaju u prirodnim naslagama treseta, ugljena i nafte je nepoznat. Smatralo se kako je piroliza organskih materijala jedini način formiranja

PAH-ova. Krajem osamdesetih godina više je znanstvenika postavilo teze da je moguća biosinteza PAH-ova (najviše benz(a)piren, BaP) u algama, bakterijama, kvascima i višim biljkama. Pronalazak 1-metil-7-izopropilfenantrena u katranu iz pinije i izolacija PAH-ova direktno iz biljnog materijala ukazuju da bi mogla biti moguća biosinteza ovih spojeva (Stogiannidis i Laane, 2015).

PAH-ovi su prisutni i u međuzvjezdanoj prašini. Međuzvjezdana prašina su kozmičke čestice koje su ugrađene u međuzvjezdani medij, odnosno prostor između nebeskih tijela. Mogu biti od nanometarskih do centimetarskih veličina. Istraživanjima u kojima se proučavao sastav međuzvjezdane prašine u Sunčevom sustavu, detektirani su PAH-ovi uz amorfnu ugljik i silikate (Mann i sur., 2014). Iako nastaju prirodno, prirodni izvori PAH-ova danas ne pridonose značajno sveukupnoj emisiji PAH-ova (Maliszewska-Kordybach, 1999).

2. 3. 2. ANTROPOGENI IZVORI PAH-OVA

PAH-ovi uglavnom potječu iz antropogenih izvora, odnosno aktivnosti koje su vezane uz pirolizu i nepotpuno izgaranje organskih materijala. Kakvi će oblici PAH-ova biti prisutni, kako će se dalje distribuirati u okolišu i kakvo će biti njihovo toksično djelovanje ovisi o izvoru iz kojeg su nastali. Antropogeni izvori su industrija, kućanstva, vozila i agrikultura. Izvori u kućanstvima se najviše odnose na grijanje i kuhanje. To uključuje peći za grijanje, kamine, štednjake i plamenike na naftu i plin. Kod korištenja biološkog materijala za dobivanje topline, dolazi do pirolize ili spaljivanja plina, ulja, ugljena, drva, smeća ili nekih drugih organskih tvari (Kim i sur., 2013).

Za procjenu otpuštenih PAH-ova u okoliš koristi se brojčana vrijednost, emisijski faktor koji daje predodžbu o tome koliko je ispušteno PAH-ova u procesima izgaranja, gorenja i pirolize. Označava se kao masa otpuštenih PAH-ova po kg utrošene sirovine (Yang i sur., 1998). Emisijski faktori su najmanji za gorivo brodova i aviona, a znatno veći za drvo i ostala goriva koja se koriste za grijanje, te za automobile. Emisijski faktor je znatno niži kod upotrebe briketa ugljena nego kod upotrebe sirovog ugljena koji se najčešće koristi u kućanstvima u Aziji. Usporedbom topline koja se dobije po masi uporabljenog goriva, te količini PAH-ova u dimu, do najviše emisije PAH-ova dolazi izgaranjem drva, a najmanje ugljena (Ravindra i sur., 2008).

Budući da se velik dio stanovništva grije spaljivanjem organskih goriva, te isto koristi za kuhanje, PAH-ovi ovako nastali u kućanstvima također su značajan izvor onečišćenja. Prema

procjenama Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, eng. *World Health Organization*) iz 2003. godine 75 % stanovništva Kine, Indije i Jugoistočne Azije, te 50-75 % stanovništva Južne Amerike i Afrike kuha i grije se na taj način, bez dodataka za pročišćavanje zraka koji postoje u industrijskim postrojenjima (Norman i sur., 2007). Doprinos PAH-ovima iz kućanstava donosi i spaljivanje otpada i smeća (Maliszewska-Kordybach, 1999).

Izvori PAH-ova u industriji uglavnom su emisije iz procesa proizvodnje koksa, petrokemijske industrije, proizvodnje gume i cementa, procesiranja bitumena i asfalta, sinteriranja aluminijske, prezervacije drveta, komercijalne proizvodnje energije i topline te spaljivanja otpada. PAH-ovi porijeklom iz industrijskih postrojenja nastaju gorenjem plina, ulja i ugljena, kao i procesiranjem sirovih materijala poput aluminijske. Istraživanje koje su proveli Yang i suradnici 1998. godine izvijestilo je o emisijama plinova iz dimnjaka različitih industrijskih postrojenja, kao što su visoke peći, peći sa čistim kisikom, koksare, elektrane, proizvodnja teških loživih ulja i proizvodnja cementa. Emisijski faktor svih PAH-ova iz dimnjaka navedenih postrojenja bio je u rasponu od 77,0 do 3970 µg/kg sirovine, dok za benz(a)piren u rasponu od 1,87 do 15,5 µg/kg sirovine. Najviši emisijski faktor ukupnih PAH-ova i BaP pronađeni su kod izgaranja teških ulja (Yang i sur., 1998).

Emisiji PAH-ova znatno doprinosi i spaljivanje otpada. Istraživanje o nastanku i količini nastalih PAH-ova spaljivanjem guma iz otpada provedeno je 2007. godine. Gume se spaljuju pirolizom, a proučavala se količina i vrsta PAH-ova nastalih tijekom tog procesa. Najveći je bio sadržaj PAH-ova visoke molekulske mase (indeno(1,2,3,-cd)piren, dibenz(a,h)antracen i benz(a)piren). PAH-ovi u prahu spaljenih guma bili su prisutni u količini od 77 mg/g. Kada se u obzir uzme ukupna količina PAH-ova, dobivena je brojka od 42,3 g/dan (Chen i sur., 2007). Manje emisijske faktore imaju spaljeni otpadi iz industrije i domaćinstva (Ravindra i sur., 2008).

U urbanim sredinama su glavni uzroci emisije PAH-ova ispušni plinovi automobila, kamiona, željeznice, morskog i zračnog prometa. Emisija ovisi o gorivu koje se upotrebljava za pogon vozila i vrsti maziva. PAH-ovi u ispušnim plinovima iz motornih vozila formiraju se trima mehanizmima: kondenzacijama, brzim reakcijama s radikalima i ionskim reakcijama. Proizvodnji PAH-ova iz goriva doprinosi i manji omjer zraka i goriva. Ukupna emisija ispuštenih PAH-ova je manja kod gorenja lakših goriva, u odnosu na teža goriva. Tako je za benzinske motore izmjerena emisija od 0,7 µg/km do 350 µg/km, dok je za dizel motore izmjerena emisija od 60,2 i 240 µg/km (Ravindra i sur., 2008).

Spaljivanje organskih materijala u agrikulturi također je jedan od izvora PAH-ova. To uključuje otvoreno spaljivanje drveta, slame, vrištine, vrijeska i pljeve. Uvjeti izgaranja organskih materijala kao što su temperatura izgaranja i veća ili manja prisutnost kisika određuju koliko će PAH-ova biti proizvedeno tijekom spaljivanja. S povećanjem temperature i udjela kisika povećava se količina nastalih PAH-ova, a smanjuje se s većom količinom vlage u biomasi. Emisijski faktori goriva koje sagorijeva paljenjem otpada iz agrikulture su izmjereni u vrijednostima od 5 do 683 mg/kg. Slama od ječma i pšenice je gorenjem otpuštala najveće količine PAH-ova, dok su manje vrijednosti bile za ostatke kukuruza, slamu od riže i ostatke drveta (Jenkins i sur., 1996).

2. 3. 3. PRISUTNOST PAH-OVA U ZRAKU

PAH-ovi dospijevaju u atmosferu izgaranjem ili isparavanjem. Zrak u jako malom udjelu doprinosi ukupnom onečišćenju s manje od 0,5%. Međutim, PAH-ovi u zraku su bitni jer se upravo ondje skupljaju, preoblikuju i reagiraju, te dalje transportiraju. Raspodjela PAH-ova u plinovima ovisi o njihovoj molekulskoj masi, temperaturi i vlažnosti zraka i taloženju. PAH-ovi manjih molekularnih masa lakše i češće reagiraju s drugim zagađivačima, pa tako često reagiraju s ozonom, dušikovim oksidima i sumpornim dioksidom i formiraju spojeve kao što su dinitro-PAH-ovi, nitro-PAH-ovi, sumporna kiselina. Produkti tih reakcija imaju veću toksičnost od PAH-ova manjih molekularnih masa (Kim i sur., 2013; Maliszewska-Kordybach, 1999).

Nisko hlapivi PAH-ovi s više od 5 aromatskih prstena kondenziraju se pri višim temperaturama i adsorbiraju se na česticama zraka. Nisu jako mobilni i brzo se odvajaju od čestica na koje su adsorbirani, te se brzo vraćaju u izvor. PAH-ovi građeni od 2-3 aromatska prstena kondenziraju pri nižim temperaturama i u višim su koncentracijama u plinovima. Mogu se transportirati dalje pomoću zraka, pa tako mogu biti dispergirani po cijelom svijetu (Maliszewska-Kordybach, 1999).

Spojevi građeni od 4 aromatska prstena kao što su piren ili fenantren nalaze se i u plinovitoj fazi i adsorbirani na česticama zraka. Pregradnja PAH-ova s 4 aromatska prstena u zraku je najosjetljivija na utjecaje čimbenika iz okoliša (Maliszewska-Kordybach, 1999). Tijekom ljetnih mjeseci kada je temperatura zraka viša u tropskim područjima koncentracija im je veća u plinovitoj fazi, a tijekom zimskih mjeseci kada su temperature niže češće su prisutni u obliku čestica, vezanih na česticama zraka. Tako je u jednom istraživanju u Gornjoj Šleskoj u Poljskoj udio PAH-ova koji su u obliku čestica u zraku 10-20 puta veći zimi nego

na istom području ljeti (Bodzek i sur., 1993). Budući da su vozila jedan od najvećih izvora PAH-ova u zraku, blizina prometnice ima bitnu ulogu u tome koliko će tih spojeva biti prisutno u atmosferi. U europskim gradovima količina PAH-ova u atmosferi je znatno veća u urbanim područjima, u odnosu na ruralna područja. Količina PAH-ova se u jako prometnim gradovima može pratiti i tijekom dana, pa je tako istraživanje u Massachusettsu pokazalo kako je koncentracija PAH-ova najviša tijekom jutarnjih sati radnih dana u tjednu, kada je promet najgušći (Levy i sur., 2001).

Osim prometa, onečišćenju zraka PAH-ovima pridonosi i grijanje kućanstava, kao i veća proizvodnja energije u toplanama tijekom zime. To potvrđuje rezultate mnogobrojnih istraživanja koja navode da je koncentracija PAH-ova na česticama zraka viša zimi nego ljeti. Odnos PAH-ova u plinovitom stanju i u obliku čestica pada s povećanjem udjela vlage u zraku, a ovisi i o prirodi čestica zraka na koje adsorbiraju. PAH-ovi prisutni u zraku ulaze u fizikalno-kemijske reakcije i mogu se fotokemijski transformirati, taložiti i reagirati s drugim zagađenjima zraka. Iz zraka izlaze taloženjem ili se uništavaju u nizu kemijskih reakcija. Poluvrijeme zadržavanja PAH-ova u zraku može biti od nekoliko sati do nekoliko tjedana. Duljina zadržavanja ovisi o količini svjetla, temperaturi i vlažnosti zraka. Najkraće će se zadržavati u zraku ukoliko ima više svjetlosti, pri nižim temperaturama i nižoj vlažnosti zraka jer su to najpovoljniji uvjeti za dekompoziciju PAH-ova u zraku (Maliszewska-Kordybach, 1999).

Taloženjem nestaju PAH-ovi iz zraka i ostaju na tlu ili u vodi. Stopa taloženja ovisi o površini, pa se tako PAH-ovi iz zraka skoro dvostruko brže talože nad suhim tlom nego nad morem. Odstranjivanje PAH-ova u obliku čestica iz zraka ovisi o njihovim fizikalnim parametrima, ponajviše veličini čestica na koje su adsorbirale, a koje mogu biti veličine od 0,2 μm do 40 μm (Maliszewska-Kordybach, 1999). Varijacije između veličine čestica na koje su se vezali PAH-ovi u zraku imaju bitan utjecaj na koncentracije PAH-ova u zraku i raspodjelu PAH-ova između atmosfere i hidrosfere. Tako je izračunato da oko 6 tona pirena i 3 tone benz(a)pirena godišnje dopijeva u sjeverni Atlantik samo taloženjem iz atmosfere. S druge strane, oko 23 % PAH-ova iz zraka se taloži na tlo, a 40-75 % se uklanja iz zraka drugim mehanizmima (Maliszewska-Kordybach, 1999, Wild i Jones, 1995).

Najznačajnija skupina reakcija kojima PAH-ovi podliježu u atmosferi su fotokemijske transformacije. PAH-ovi u plinovitoj fazi podliježu ovim reakcijama češće nego oni adsorbirani na čestice tla. Ukoliko su u zraku prisutne vrlo porozne čestice, pepeo i čestice

koje sadrže ugljik, one mogu na sebe adsorbirati PAH-ove te na taj način zaštititi atmosferu od fotooksidacije (Kim i sur., 2013).

U europskim zemljama količina benz(a)pirena u zraku je, ovisno o dijelu kontinenta, između 0,034 ng/m³ (Finska) i 2,9 ng/m³ (područje bivše Čehoslovačke). Budući da je ukupna količina PAH-ova 10 puta veća od koncentracije BaP, procjenjuje se da je koncentracija svih PAH-ova u zraku između 0,3-0,7 ng/m³ u najmanje onečišćenim područjima i 10-30 ng/m³ u Srednjoj Europi. U europskim zemljama najveća koncentracija benz(a)pirena nalazi se u Češkoj i Slovačkoj, Mađarskoj, Njemačkoj, Poljskoj i Austriji. Najmanja je koncentracija u skandinavskim zemljama i Portugalu. Emisija PAH-ova u atmosferu u zemljama Europske unije (EU) znatno se smanjila od 1990. godine do danas (Maliszewska-Kordybach, 1999).

Prema izračunima Europske agencije za okoliš (EEA, eng. *European Environment Agency*) razina emisije PAH-ova je do 2013. godine smanjena na 38 % emisije u odnosu na 1990. godinu. Doprinos onečišćenju atmosfere u zemljama Europske unije u npr. 2011. godini također potječe iz kućanstva, komercijalnog i institucijskog sektora (EEA, 2015).

2. 3. 4. PRISUTNOST PAH-OVA U TLU

Taloženjem PAH-ova iz zraka, oni prelaze u tlo, što im je glavna ruta ulaska u okoliš. Budući da su aromatski spojevi lipofilni, PAH-ovi se ne zadržavaju u vodenom okolišu, nego većinom u tlu. Tako PAH-ovima postaju izloženi organizmi koji se hrane biljkama iz kontaminiranog tla (Kim i sur., 2013).

Ispitivanje u kojem se mjerilo taloženje PAH-ova u tlu u europskim zemljama pokazalo je kako se benz(a)piren taloži na tlu Austrije, Njemačke, Francuske i Nizozemske u količinama od 34,0; 214,4; 7,7 i 13,3 ng/m²/dan (HRN EN 15980:2011). PAH-ovi se apsorbiraju na površini organskog materijala zemlje, te prodiru unutar šupljina u česticama zemlje. Apsorpcija onečišćivača, pa tako i PAH-ova, ovisi o tipu zemlje čija se nehomogenost očituje u razlici količine vode, te vrsti i količini organskog materijala. PAH-ovi se lako i čvrsto adsorbiraju na čađu i humusne tvari ili se zadržavaju u porama i prazninama u zemlji. Tako je njihova apsorpcija jača kod zemlje koja sadrži više pora (glineno tlo) nego kod zemlje s višim sadržajem organske tvari. Na dostupnost PAH-ova u zemlji utječu i anorganski dijelovi zemlje (minerali, oksidi i metali) (Jonsson i sur., 2006).

Budući da se brzo i čvrsto vežu na čestice tla te zbog hidrofobne strukture, PAH-ovi iz tla i zraka ne dospijevaju u dublje slojeve tla, zbog čega sudjeluju u zagađivanju podzemnih voda.

Istraživanje iz 1984. godine opisuje sadržaj PAH-ova u tlu blizu prometnice. Površinski sloj zemlje, od 0 do 4 cm u dubinu, za 1 m udaljen od prometnice sadržavao je 20,000 µg/kg zemlje PAH-ova (piren, fluoranten, krizen, benz(a)antracen, benz(a)piren, benz(e)piren i koronen), dok je površinski sloj zemlje udaljen od prometnice za 600 m sadržavao znatno manju količinu PAH-ova (4,000-8,000 µg/kg zemlje). Također je promatrana količina pojedinih PAH-ova u udaljenijem tlu. Razlučeni su PAH-ovi koji su "dospjeli dalje", odnosno ostali stabilniji kroz dulji transport, od onih koji su manje stabilni te nisu preneseni daleko. Fluoranten, koronen i krizen su od navedenih PAH-ova najstabilniji i imaju najdulji vijek. Piren i benz(a)antracen imaju srednje dugački vijek i time stabilnost, a najmanje je stabilan benz(a)piren (Butler i sur., 1984).

Rizik od zagađenja PAH-ovima iz tla postoji za zeleno lisnato povrće koje raste iz zagađenog tla te za meso stoke i peradi koja se hrani biljkama iz tla u kojem su prisutni PAH-ovi. U biljke dospijevaju i adsorpcijom, a mogu dospjeti samo PAH-ovi manje molekulske mase (SCF, 2002).

Kod biljaka, PAH-ovi iz tla ostaju koncentrirani u tkivima na površini biljke kao što su kora i lišće. Spojevi vezani na čestice adsorpcijom lako se odstranjuju pranjem, ali spojeve otopljene u voštanim slojevima bilja kao što su kora ili list nije lako odstraniti pranjem. Iako se PAH-ovi nakupljaju u tlu, dospijevaju u biljni materijal koji raste iz tog tla i tako kontaminiraju hranu. Unos PAH-ova hranom znatno je veći za spojeve nastale u hrani tijekom procesiranja, od onih koje su dospjeli u hranu iz tla.

2. 3. 5. PRISUTNOST PAH-OVA U VODI

PAH-ovi dospijevaju u vodu taloženjem iz zraka iznad vodenih površina, oborinskim vodama ili ispuštanjem industrijskog otpada u vode. Tada dospijevaju u sedimente i vodu. U vodi nisu topivi, ali se čvrsto vežu na sedimente zbog čega može doći do onečišćenja vodenih ekosustava.

U oborinske vode dospijevaju iz zraka, koje na putu do rijeka i jezera dodatno ispiru krovove, ceste, parkirališta i ostale površine na kojima mogu biti prisutni PAH-ovi. Na taj način oborinske vode sakupljaju PAH-ove iz više izvora, te ih odvede u vodene ekosustave (Manoli i Samara, 1999).

Industrijske otpadne vode onečišćene PAH-ovima najčešće dolaze iz industrija koje se bave proizvodnjom kemikalija: otapala, maziva, boja, insekticida. U spomenutim industrijama

se koriste PAH-ovi nižih molekulskih masa (naftalen, acenaften, fluoren, fenantren). Također je moguće da PAH-ovi dospiju u vodu izlivanjem fosilnih goriva. Općenito, veće koncentracije PAH-ova u vodi i sedimentima nađene su iz uzoraka koji su bili bliže industrijskim postrojenjima na obali.

Koncentracija svih PAH-ova u europskim rijekama kreće se od 2 do 500 ng po litri vode iz rijeke. Najviše su koncentracije u rijekama u Njemačkoj (Elba, Dunac, Aach) i Ujedinjenom Kraljevstvu, dok su manje u Grčkoj. Koncentracije ukupnih PAH-ova vezanih na suspendirane čestice u zapadnom dijelu Mediterana kreću se od 200 do 750 pg/L, a najveće su u Gibraltaru i Sicilijanskim tjesnacima, između Iberijskog poluotoka i Balearskih otoka. Također, koncentracija svih PAH-ova je znatno niža pri većim dubinama, tako da je znatno niža pri dubini od 70-415 m u odnosu na koncentraciju pri dubini od 10-25 m (Baltičko more) (Manoli i Samara, 1999).

Većina vodenih organizama ima visoki potencijal biotransformacija PAH-ova, zbog čega ne dolazi do značajne biomagnifikacije u hranidbenom lancu. Nisku sposobnost metaboliziranja, odnosno biotransformacija PAH-ova imaju neki školjkaši poput dagnji i kamenica. Dagnje i kamenice filtriraju velike količine vode, pa u njima dolazi do akumuliranja PAH-ova. Biomagnifikacija PAH-ova može predstavljati veliki rizik, pogotovo kod organizama koji žive u vodi. Organizmi koji su niže u prehranbenom lancu vodenih ekosustava filtriraju vodu i u svojim tkivima akumuliraju PAH-ove, koji kasnije prehranom dolaze u tkiva životinja koje se nalaze više u prehranbenom lancu. Tako se količina PAH-ova povećava kod životinja koje se nalaze više u hranidbenom lancu (Phillips, 1999).

2. 3. 6. UKLANJANJE PAH-OVA IZ OKOLIŠA

Razvijeni su različiti postupci uklanjanja PAH-ova u onečišćenom okolišu. PAH-ovi mogu biti uklonjeni iz vode i tla korištenjem adsorbensa, kao što su aktivni ugljen, organski minerali, polimerne gline, pijesak, sedimenti, celuloza i membrane. Uklanjanje PAH-ova iz zraka temelji se na fotokemijskim transformacijama i taloženju. Učinkovitost većine postupaka uklanjanja PAH-ova se kreće između 90 i 100%, a ovisi o tipu PAH-ova, svojstvima adsorbensa, učinkovitosti adsorpcije, vremenu kontakta s adsorbensom i mogućim eventualnim konkurentnim spojevima koji se vežu na adsorbense (Lamichhane i sur., 2016).

2. 4. UNOS PAH-OVA HRANOM

Ljudi su svakodnevno izloženi PAH-ovima iz zraka, hrane, duhanskog dima i dima iz otvorenih kamina ili ložišta. Za nepušače je izloženost organizma PAH-ovima koji dolaze iz hrane najzastupljenija.

Po podrijetlu PAH-ova u hrani razlikujemo one koji se nalaze u sirovoj hrani (prijenos iz tla i okoliša) i PAH-ova koji su nastali u hrani tijekom procesiranja. PAH-ovi koje najčešće nalazimo u hrani su: benz(a)piren, benz(a)antracen, krizen, dibenz(a,h)antracen, piren, antracen, fluoranten i benz(b)fluoranten. Prema uredbama Europske komisije, spoj koji se koristi kao marker je benz(a)piren. Stoga se kod analize hrane isprva neizostavno analizirala njegova prisutnost i koncentracija. U međuvremenu je Znanstveni odbor za prehranu (SCF, eng. *Scientific Committee on Food*) ustanovio kako ta analiza ne daje potpuno ispravne rezultate. Donesena je preporuka za provođenjem daljnjih analiza relativnih omjera PAH-ova u hrani s ciljem donošenja zaključka o eventualnom uvođenju novih markera. No, zasad se kao marker za prisutnost PAH-ova s kancerogenim svojstvima u hrani i dalje koristi benz(a)piren (EFSA, 2008).

Procesiranje hrane poput sušenja, pečenja, dimljenja, prženja i pečenja na roštilju su glavni načini tvorbe PAH-ova. Najveće dopuštene količine su propisane za benz(a)piren, kao i za zbroj ukupnih količina benz(a)pirena, benz(a)antracena, benz(b)fluorantena i krizena, te se razlikuju s obzirom na vrstu hrane. Za svaku skupinu namirnica propisane su dvije vrijednosti: vrijednost najveće dopuštene količine benz(a)pirena i vrijednost najveće dopuštene količine sume 4 PAH spoja (benz(a)pirena, benz(a)antracena, benz(b)fluorantena i krizena) (Europska komisija, 2011).

Najveće količine individualnih PAH-ova u hrani izmjerene su do 200 µg/kg u dimljenom mesu i ribi. U roštiljanom mesu nađeno je i 130 µg/kg. Prosjek sadržaja ukupnih PAH-ova u hrani prije termičke obrade je između 0,01 i 0,1 µg/kg. Namirnice koje sadrže najveću količinu ukupnih PAH-ova i kancerogenih PAH-ova su: žitarice, margarini, ulja, sušeno voće i dimljeni proizvodi. Doprinos ukupnom unosu PAH-ova iz namirnica ovisi i o količini konzumiranih namirnica. Sušeno voće koje samo po sebi sadrži veće količine PAH-ova ipak neće toliko doprinjeti njihovom ukupnom unosu koliko i žitarice koje se konzumiraju češće, možda i svakodnevno u jutarnjem obroku (SCF, 2002).

2. 4. 1. ULJA I MASTI

Biljna ulja su bitan dio prehrane, stoga unos PAH-ova putem ulja i proizvoda koji sadrže ulje nikako nije zanemariv. PAH-ovi iz biljnih ulja dopijevaju i u druge prehrambene proizvode koje ljudi svakodnevno konzumiraju, poput žitarica, keksa, kolača ili salata s raznim preljevima.

Mogući izvori kontaminacije ulja su kontaminacija biljnog materijala prije početka proizvodnje ulja, dimljenje kao način sušenja biljnog materijala prije ekstrakcije i kontaminacija iz otapala koje se koristilo za ekstrakciju. Tako primjerice dim u procesu i tijekom sušenja sjemenki kod proizvodnje ulja može doći u kontakt sa sjemenkama i na taj način kontaminirati konačni proizvod PAH-ovima. Budući da su PAH-ovi liposolubilni, lako ostaju u uljima. Količina PAH-ova u ulju ovisi o načinu procesiranja ulja, najviše o procesu deodorizacije tijekom kojeg se smanjuje koncentracija nekih PAH-ova niskih molekulskih masa. Također je moguće pročišćavanje PAH-ova iz ulja tretiranjem adsorbentima poput aktivnog ugljena.

Istraživanje količine pet PAH-ova u maslinama koje je provedeno u dolinama blizu Firence u Italiji pokazalo je da su na nekim područjima prisutni u malim koncentracijama od 1-3 $\mu\text{g/kg}$, dok su na drugim područjima bile do visokih 15 $\mu\text{g/kg}$. Koncentracija PAH-ova ovisila je o tome koliko su masline bile blizu prometnica. Najveći izvor PAH-ova na tom području su ispušni plinovi automobila, sustavi za proizvodnju topline i način zbrinjavanja otpada. Na mjestima gdje su bile veće koncentracije PAH-ova u zraku, bile su i veće koncentracije u maslinama. To potvrđuje poznatu tvrdnju da PAH-ovi u biljke dopijevaju i iz zraka i putem tla (Ignesti i sur., 1992).

Mliječni proizvodi uglavnom sadrže manje koncentracije PAH-ova nego njihovi ekvivalenti na bazi biljnih ulja, pa tako u margarinima nalazimo njihovu znatno višu koncentraciju nego u maslacu. Mlijeko može sadržavati benz(a)piren, ali u niskim koncentracijama, tek oko 6,5 ng/kg (Somogyi i Beck, 1993.)

Procijenjena količina PAH-ova u mastima i uljima iznosi 2,4 $\mu\text{g/kg}$ iz maslaca, 4,0 $\mu\text{g/kg}$ iz mješavina maslaca i biljnih ulja, 32 $\mu\text{g/kg}$ iz margarina za kuhanje i pečenje, 12 $\mu\text{g/kg}$ iz mazivih margarina te 23 $\mu\text{g/kg}$ iz biljnih ulja (Hopia i sur., 1982). Na osnovi ovih podataka, a s obzirom na prosječnu godišnju konzumaciju ovih proizvoda po stanovniku, izračunato je da je godišnji unos PAH-ova iz maslaca bio 27 μg , iz margarina 160 μg , iz biljnih ulja 40 μg te

iz mješavina ulja i maslaca 3 µg. To ukupno po osobi iznosi 230 µg godišnje odnosno 0,6 µg dnevno (Hopia i sur., 1982).

Za ulja i masti (osim kakaovog maslaca i kokosovog ulja) koja služe za izravnu prehranu ljudi ili su sastojak hrane najveća dopuštena količina benz(a)pirena je 2,0 µg/kg, a zbroj količine sva četiri PAH-ova ne smije prekoračiti iznos od 10,0 µg/kg. Za kokosovo ulje i kakaov maslac propisane vrijednosti su nešto drugačije. Razlog tome leži u većim količinama PAH-ova koji nastaju kao posljedica drugačijeg proizvodnog procesa. Kakaov maslac ima višu razinu PAH-ova zbog neodgovarajućih načina sušenja kakao zrna i činjenice da se on ne može rafinirati kao druga biljna ulja i masti. Kokosovo ulje pak sadrži veću količinu PAH-ova zbog prirodno veće prisutnosti benz(a)antracena i krizena koji se ne mogu lako ukloniti tijekom njegove rafinacije. Kokosovo ulje za izravnu prehranu ljudi ili kao sastojak u hrani smije sadržavati najviše 2,0 µg/kg benz(a)pirena, a zbroj količine sva četiri PAH-ova ne smije prekoračiti iznos od 20,0 µg/kg (Europska komisija, 2011).

2. 4. 2. POVRĆE

U ljudskoj prehrani također značajan izvor PAH-ova koji dospjevaju iz onečišćenja zraka ili tla može biti i lisnato povrće (EFSA, 2008). Međutim, do 50% PAH-ova se može odstraniti pranjem povrća (SCF, 2002).

Istraživanje u Finskoj ustanovilo je posebno visoke količine PAH-ova (0,0048-0,094 mg/kg) u svježoj salati. Istraživanje u blizini New Delhia 2012. godine kojim se ispitala prisutnost 16 različitih PAH-ova u povrću, pokazalo je koncentracije od 0,07 mg/kg za tikvu sađenu ljeti, 1,1 mg/kg za rotkvicu sađenu zimi, 0,002 mg/kg za crni grah sađen ljeti te 0,05 mg/kg za špinat sađen zimi (Khillare i sur., 2012). Nadalje, istraživanje iz 1999. godine o koncentracijama PAH-ova u povrću u Grčkoj u industrijskom području pokazalo je 0,02-0,29 mg/kg u unutarnjim tkivima lisnatog povrća odnosno 0,04-0,09 mg/kg u korjenastom povrću (Kipopoulou i sur., 1999). Prema istraživanju iz 2004. godine u Španjolskoj na području u blizini petrokemijske industrije prisutnost PAH-ova u povrću iznosila je od 0,02 do 0,17 mg/kg (Nadal i sur., 2004).

Općenito, količine PAH-ova u povrću kreću se između 0,01 i 1 mg/kg, a količina ovisi najviše o tipu povrća, godišnjem dobu i udaljenosti od zagađivača zraka. Lisnato povrće koje sadrži voštani vanjski sloj lista s većom površinom pora podložnije je zagađenju PAH-ovima zbog toga što je najdominantnija kontaminacija zrakom. Korjenasto povrće poput krumpira,

mrkve i rotkvice lakše apsorbira PAH-ove iz kontaminiranog okoliša od povrća poput krastavca, patlidana i rajčice (Bansal i Kim, 2015). U odnosu na današnje doba, količine PAH-ova u usjevima bile su znatno veće sredinom 20. stoljeća. Razlog tomu je smanjenje zagađenja atmosfere ovim spojevima, pa prema tome i smanjenje zagađenja tla. Najviše dopuštene vrijednosti sadržaja PAH-ova u povrću za sada nisu obuhvaćene važećim propisima (Europska komisija, 2011).

2. 4. 3. ŽITARICE

PAH-ovi u žitarice dospjevaju ili iz tla ili kontaminacijom usjeva izvana. Trenutni podaci o prisutnosti PAH-ova u žitaricama i povrću su ograničeni i ne postoje propisane njihove najviše dopuštene vrijednosti, kao što je i slučaj kod povrća (Europska komisija, 2011). Iako žitarice sadrže niske količine PAH-ova, njihov unos hranom može biti značajan s obzirom na njihovu češću konzumaciju (Harvey, 1991).

2. 4. 4. MESO I RIBA

Dimljenje i neki drugi načini procesiranja smatraju se glavnim načinom kontaminacije mesa i ribe PAH-ovima. Količina PAH-ova nastalih tijekom procesiranja ovisi o duljini trajanja termičke obrade namirnice, udaljenosti namirnice od izvora topline i načinu pripreme namirnice (npr. kod roštiljanja – kapanje masti na otvoreni izvor topline).

Ovdje je važno naglasiti da dimljenjem dolazi do nastajanja nositelja specifičnih organoleptičkih svojstava dimljenih proizvoda: derivati fenola, karbonili, pirol, derivati furana, esteri, organske kiseline i njihovi esteri i laktoni. Dim nastaje spaljivanjem drva uz prisustvo kisika, kao polidisperzirani sustav čestica tekućine i krutine u plinovitoj fazi. Plinovitu fazu čine zrak, CO, CO₂, vodena para, metan i neki drugi plinovi. Temperature dimljenja i vlažnost drveta imaju bitnu ulogu u stvaranju PAH-ova. Raspon temperatura spaljivanja materijala iz kojeg nastaje dim za celulozu je 180-300 °C, za hemicelulozu 260-350 °C, a za lignin 300-500 °C (Harvey, 1991).

Kod dimljenja hrane vidljive su varijacije u nastajanju PAH-ova s obzirom na vrstu i sastav drva, vrstu generatora topline, prisutnost kisika, temperaturu pri kojoj se stvara dim i vrijeme dimljenja. Dimljenjem ribe tradicionalnim metodama u prosjeku dobivamo proizvod s 1,2 µg benz(a)pirena po kg dimljenog proizvoda, odnosno 9 µg ukupnih kancerogenih spojeva po kg dimljenog proizvoda. Usporedbom različitih aroma i tipova drveta koja se koriste za

dimljenje, dobiveno je da se najveće koncentracije ukupnih PAH-ova, kao i ukupnih kancerogenih PAH-ova, dobivaju dimljenjem s drvetom topole, dok ih je znatno manje kod dimljenja s drvetom hrasta, trešnje i bukve (NCBI, 1983).

Količina PAH-ova u dimu, formiranih tijekom pirolize linearno se povećava s povišenjem temperature kada je temperatura izgaranja između 400 i 1000°C. Temperatura dimljenog materijala je do 50 °C. Drvo niže vlažnosti omogućava više temperature materijala koji proizvodi dim, zbog čega dolazi do stvaranja veće količine PAH-ova. Stoga se nastajanje PAH-ova može umanjiti smanjenjem temperature izgaranja, odnosno povećanjem vlažnosti drva. Mast koja curi iz namirnice i kapa u vatru, u vatri podliježe pirolizi tijekom koje dolazi do nastajanja PAH-ova različitim mehanizmima, koji nisu u potpunosti razjašnjeni (Lijinsky i Ross, 1967).

Istraživanje koje je proveo Saint-Aubert sa suradnicima još 1992. godine pokazalo je znatne razlike u količini PAH-ova u roštiljanom mesu s obzirom na položaj mesa na roštilju. Istraživanje se provodilo s različitim vrstama mesa i ribe. Kod roštiljanja na horizontalnom roštilju mast iz namirnice može kapati po izvoru topline, dok je kod vertikalnog roštilja to kapanje spriječeno. Stoga su u slučaju roštiljanja s vertikalnim roštiljem izmjerene količine PAH-ova bile 10-30 puta manje u usporedbi s horizontalnim roštiljem (Saint-Aubert i sur., 1992). Daljnjim istraživanjem koje je provedeno 1997. godine uspoređivala se količina nastalih PAH-ova u mesu odreska pačjeg mesa ovisno o vremenu i načinu procesiranja. Najvišu količinu ukupnih PAH-ova imalo je meso bez kože pripremljeno pomoću grila na ugljik, ukupno 320 µg/kg. Malo manju količinu imalo je meso pripremljeno na isti način s kožom, dok je ukupnih PAH-ova u slučaju dimljenja bilo 210 µg/kg, a u slučaju pečenja 130 µg/kg. Najmanja količina ukupnih PAH-ova nastaje ukoliko se meso priprema na pari 0,3 µg/kg, što je 1000 puta manje nego na grilu (Harvey, 1991; EFSA, 2008, SCF, 2002).

Najveća dopuštena količina benz(a)pirena u dimljenom mesu i dimljenim mesnim proizvodima, mišićnom mesu dimljene ribe i dimljenim proizvodima ribarstva je 2,0 µg/kg, a četiri PAH spoja 12,0 µg/kg. Za dimljene školjkaše propisane su posebne vrijednosti (6,0 µg/kg za benz(a)piren i 35,0 µg/kg za četiri PAH-a), kao i za dimljene i konzervirane papaline, svježe školjkaše, toplinski obrađeno meso i mesne proizvode koji se prodaju kao gotovi proizvod (5,0 µg/kg za benz(a)piren i 30,0 µg/kg za četiri PAH-a) (Europska komisija, 2011).

2. 4. 5. KAVA I ČAJ

Prženje kave može uzrokovati tvorbu PAH-ova. Istraživanje iz 2009. godine mjeri koncentracije od 28 PAH-ova u 13 različitih tipova pripremljene kave. Ukupni PAH-ovi su u prosjeku bili prisutni u koncentracijama od 0,52 do 1,8 µg/l (Orecchio i sur., 2009). Prethodna istraživanja izmjerila su koncentracije PAH-ova u kavi od 17 µg/l i 0,1-0,4 µg/l za kavu pripremljenu filterima (Narsi i sur., 2005). Istraživanje iz 2013. godine zaključilo je da nema korelacije između koncentracije PAH-ova u kavi i stupnja prženja zrna, ali postoje razlike između kultivara (Silvia i sur., 2013). Tako su PAH-ovi u kavi prisutni u rasponu koncentracija od 0,025 do 17 µg/l, a sama koncentracija ovisi o kultivaru i načinu kuhanja kave.

2. 4. 6. KONDITORI

PAH-ovi u konditorskim proizvodima i proizvodima za pripremu kolača i slatkiša potječu od kakaovog maslaca i šećera, te ih najviše ima u proizvodima koji sadrže kakao.

Zrna kakaa tijekom obrade prolaze sušenje, pečenje, prženje i fermentiranje tijekom kojih može doći do tvorbe PAH-ova. Međutim, kakaovo zrno ima ovojnicu koja ga štiti, pa količina PAH-ova u zrnima kakaa nije visoka. Koncentracija PAH-ova u kakaovim proizvodima može biti 2,7-235 ng/g za PAH-ove, odnosno 0,07 i 0,63 ng/g za BaP (Bansal i Kim, 2015). S obzirom na velike razlike u proizvodnji kakaovih proizvoda i drugih konditora, teško je odrediti koju količinu PAH-ova najčešće sadrže. Međutim, ta količina je unutar dopuštenih razmjera. Najveća dopuštena količina benz(a)pirena u kakaovim zrnima i proizvodima od kakaovog zrna je 5,0 µg/kg masti, a četiri PAH spoja 30,0 µg/kg masti (Europska komisija, 2011).

2. 4. 7. OSTALA HRANA I DODACI PREHRANI

Visoke razine PAH-ova ustanovljene su također i u nekim dodacima prehrani. Unatoč tome, podaci su različiti i ovise o specifičnoj vrsti dodataka prehrani. Ne postoje zakonske odredbe niti norme o tome koliko PAH-ova smije biti prisutno u dodacima prehrani. Prerađena hrana na bazi žitarica i hrana za dojenčad i malu djecu te dijetalna hrana za posebne medicinske potrebe smije sadržavati do 1,0 µg/kg benz(a)pirena te istu količinu sume četiri PAH-ova (Europska komisija, 2011).

2. 4. 8. PROSJEČAN DNEVNI UNOS

Prosječan dnevni unos po osobi iznosi 3,70 µg ukupnih PAH-ova prema istraživanju provedenom u Velikoj Britaniji (Phillips, 1999). Istraživanje provedeno u Nizozemskoj pokazalo je da je unos za 18-godišnjeg muškarca bio 5-17 µg dnevno (De Vos i sur., 1990). Procijenjen prosječan dnevni unos PAH-ova po osobi je prikazan u tablici 2.

U SAD-u je 2001. godine provedeno istraživanje u vidu upitnika o konzumiranju hrane u kojem je sudjelovalo 228 ispitanika. Rezultati upitnika s uvrštenim količinama benz(a)pirena u navedenim namirnicama analizirani su te je dobiveno da ukupnom unosu benz(a)pirena najviše doprinose kruh i žitarice za doručak s 29 %, roštiljano meso s 21 %, povrće s 11-13 %, a da je najmanji unos iz masti i ulja. Unos benz(a)pirena je bio u rasponu od 40 do 60 ng po osobi dnevno. Istraživanje o unosu benz(a)pirena provedeno u Kataloniji 2000. godine pokazalo je da je također najveći doprinos unosu dolazi od žitarica, 23 %. Unos BaP dnevno bio je 128 ng dnevno po osobi, a ukupnih PAH-ova 8418 ng (Falco i sur., 2003).

Tablica 2. Prosječan dnevni unos PAH-ova za odrasle nepušače u EU, procjene iz 2002. (prema SCF, 2002)

PAH	Dnevni unos po osobi/ng		
	Hrana	Pitka voda	Zrak
Antracen	<30-640	-	20
Benz(a)antracen	<20-410	0,2-10	20
Benz(a)piren	50-290	0,2-2	20
Benz(e)piren	200	-	20
Krisen	200-1530	200	20
Fluoranten	600-1660	2-200	100
Indeno(1, 2, 3-cd)piren	<20-460	0,2-2	20
Fenantren	<330-4510	-	400
Piren	600-1090	0,2-200	100

Za ove razine unosa PAH-ova utvrđeno je da umjereno povećavaju potencijal za rizik od pojave raka $2,85 \times 10^{-6}$ puta u općoj populaciji, $2,93 \times 10^{-6}$ za muškarce i $2,68 \times 10^{-6}$ za žene (Bansal i Kim, 2015). Unos PAH-ova u djece i adolescenata je manji nego u odraslih, međutim procijenjeni rizici su isti. Kako bi točno odredili koliki je dnevni unos PAH-ova po stanovniku, trebali bi znati koliko se kojih namirnica konzumira u određenoj populaciji i uz to imati točne analize koncentracija PAH-ova u većini namirnica.

2. 4. 9. UNOS PAH-OVA DUHANOM

Unos PAH-ova inhalacijom znatno je veći kod osoba koje su pušači u odnosu na nepušače. Koncentracije benz(a)pirena u cigaretama variraju, a kreću se između 2 i 20 ng BaP po cigareti. Ako se u izračun uzme da se udiše 80 % BaP iz cigarete, koji ulazi u pluća gdje se odlaže, dnevni unos BaP iz dima cigareta bio bi 105 ng za osobu koja puši 20 cigareta dnevno, što je znatno više od unosa hranom ili iz okoliša. Dim cigarete sadrži 10 puta više PAH-ova u usporedbi s udahnutim dimom pušača. Tako je u dimu izgorjene jedne cigarete prisutno 100 ng BaP iz koje pušač pušenjem udahne 11 ng BaP. Osobe koje su izložene duhanskom dimu u sobi koja sadrži 5-20 ng BaP/m³ 5 sati inhalacijom unesu 40 ng BaP (EFSA, 2008; Evans i sur., 1993).

2. 4. 10. DJELOVANJE NA SMANJENJE KOLIČINE PAH-OVA U HRANI

Količina PAH-ova u hrani može se donekle regulirati, odnosno smanjiti odabirom pripreme namirnice ili obrade u postrojenju, čuvanju i upotrebi začina i konzervansa.

Kuhanje, kao odabir termičke obrade nasuprot prženju ili pečenju na roštilju smanjuje količinu PAH-ova u gotovom proizvodu (kao što je već navedeno, kuhani proizvodi imaju značajno manje količine PAH-ova). Kuhanje pri nižim temperaturama ili kuhanje na pari dodatno pomaže. Ukoliko se koristi pečenje na roštilju, potrebno je odabrati način pečenja kod kojega je mast iz namirnice spriječena od padanja na ugljen. Uz to, moguće je smanjiti PAH-ove kod pečenja ukoliko se izbjegne direktan kontakt namirnice s visokom temperaturom ili otvorenim plamenom. Dimljenje kao način pripreme je bitno zbog senzorskih svojstava konačnog proizvoda, tako da će odabir nekog drugog načina pripreme značajno pogoršati senzorska svojstva koja su potrošačima bitna (Saint-Aubert i sur., 1992). Zbog toga su razvijeni tekući dodaci okusa, koji hrani koja nije dobivena dimljenjem mogu dodati okus dimljenoga. Kod proizvodnje tih tekućih dodataka okusa, količina PAH-ova je znatno smanjenja pročišćavanjem tih proizvoda. Tako „dimljeni“ proizvod koji ima naknadno dodan okus dimljenog ima manju količinu PAH-ova u odnosu na proizvod koji je pripremljen dimljenjem (Phillips, 1999).

Kod mesa koje se termički obrađuje, moguće je smanjiti PAH-ove ambalažom. Tanki sloj polietilena kao pakiranje dimljenom mesu pridonjeo je smanjenju PAH-ova u mesu za 50 % u odnosu na meso bez te ambalaže. To znači da treba koristiti posuđe koje ima odvojeni odvod masti i sokova koji izlaze iz namirnice, dovoljno je udaljeno od izvora topline da temperatura

bude niža i plamen ne dopire do namirnice koja se peče (Chen i Chen, 2005). Kod pečenja mesa na roštilju, količina PAH-ova u pečenom mesu može se smanjiti tako da se meso prethodno predgrijava na pari ili u mikrovalnoj pećnici. Osim promjenama u termičkoj obradi, formiranje PAH-ova u hrani moguće je smanjiti i spriječiti kemijskim sastavom hrane. Antioksidacijska svojstva nekih kemijskih spojeva mogu pridonijeti redukciji tvorbe PAH-ova u hrani. Mariniranje mesa u soku od limuna smanjilo je tvorbu PAH-ova u mesu pilettine za 72% i govedini za 39%, a mariniranje i pečenje u korama od banane umjesto aluminijske folije 81% u pilettini i 32% u govedini (Farhadian i sur., 2011). Dodatak začina može također pridonijeti smanjenju PAH-ova. Začini poput đumbira, češnjaka, začinskog bilja i ekstrakta bobica imaju prirodno jako antioksidacijsko djelovanje i mogu spriječiti kancerogeno djelovanje PAH-ova. Budući da su PAH-ovi osjetljivi na svjetlo, odnosno raspadaju se, moguće je smanjiti njihov sadržaj fotodegradacijom, odnosno katalizom na manje štetne kemijske spojeve. Pod UV svjetlom, PAH-ovi se mogu pretvoriti u aromatske alkohole, ketone, kvinone ili etere, u zraku kao i u vodi. Tako će se PAH-ovi moći ukloniti iz onečišćenih voda tretiranjem UV svjetlom. Kod proizvodnje ulja ili kod pripremanja hrane u koju se dodaje veća količina ulja, također smanjenje temperature ima pogodan učinak na smanjenje količine PAH-ova. Ulja koja su sušena pri nižim temperaturama i keksi koji su pečeni pri nižim temperaturama imali su niže koncentracije PAH-ova (Bansal i Kim, 2015).

Enzimsko uklanjanje (biokataliza – mikrobna razgradnja) PAH-ova također je moguće. Oksigenaze, dehidrogenaze i lignolitički enzimi mogu destabilizirati veze unutar molekula PAH-ova. Enzimski liza PAH-ova je već primjenjivana u degradaciji naftalena, fenantrena i benz(a)pirena (Bansal i Kim, 2015).

2. 5. ADME PAH-OVA

2. 5. 1. APSORPCIJA PAH-OVA

Apsorpcija PAH-ova najčešća je inhalacijom i ingestijom, rijede dermalna, intraperitonealna i intravenozna. Dermalno se apsorbiraju PAH-ovi u doticaju kristala PAH-ova s kožom, inhalacijom se apsorbiraju PAH-ovi u plinovitoj fazi ili PAH-ovi vezani na čestice zraka, ingestija uključuje apsorpciju preko gastrointestinalnog trakta PAH-ova unesenih hranom i pićem. Apsorpciju PAH-ova određuju njihova topivost u vodi i lipidima. PAH-ovi su slabo topivi u vodi, a lako topivi u mastima, što ima značajan utjecaj na njihovu apsorpciju. Vrijednosti $\log K_{ow}$ PAH-ova su između 3,4 i 7,3, a topivost u vodenim

otopinama, je od 0,26 (benz(ghi)perilen) $\mu\text{g/L}$ do $3,17 \times 10^4 \mu\text{g/L}$ (naftalen) pri temperaturi od 25 °C (Tang i sur., 2006). Općenito, svi PAH-ovi su jako slabo topivi u vodi, a dobro topivi u mastima.

Naftalen se kod životinja lako apsorbira perkutano (50 %), oralno (84 %) i inhalacijom (22-73 %). Za ljude se pretpostavlja da je također tako, te da se brzo distribuira po tijelu bez duljeg zadržavanja u određenim tkivima ili organima (Preuss i sur., 2003).

2. 5. 1. 1. DERMALNA APSORPCIJA PAH-OVA

PAH-ovi se mogu dermalno apsorbirati u obliku kristala ili u otopinama. Dermalna apsorpcija u obliku kristala je mala u odnosu na apsorpciju putem otopina. U otopinama, PAH-ovi se sporije dermalno apsorbiraju ukoliko su otopljeni u uljima zbog lipofilnosti, dok je dermalna apsorpcija bila znatno brža za PAH-ove u otopini acetona i umjetnog znoja na istraživanjima na glodavcima (Sartorelli i sur., 1999).

2. 5. 1. 2. APSORPCIJA PAH-OVA INHALACIJOM

Inhalacijom se unose PAH-ovi prisutni u zraku zbog onečišćenja zraka, duhanskog dima ili rada u industriji koja proizvodi PAH-ove. Inhalacija onečišćenog zraka uključuje inhalaciju plinovitih PAH-ova i čestica u zraku na koje su adsorbirani PAH-ovi. Pokazatelj štetnosti PAH-ova unesenih inhalacijom su također trovanje na radnom mjestu. Visoka stopa oboljelih od raka je uočena i kod radnika koji su radili s pećima na koks. Kod tih peći je koncentracija benz(a)pirena bila oko 30 mg/m^3 u zraku. Pušenje cigareta i pasivno pušenje su također načini apsorpcije PAH-ova inhalacijom (Kim i sur., 2013).

2. 5. 1. 3. INGESTIJA PAH-OVA

Ingestija PAH-ova, odnosno apsorpcija putem gastrointestinalnog trakta iz hrane ovisi o molekulskoj masi PAH-ova, odnosno njihovoj topivosti u vodi i lipidima i sastavu ostale hrane prisutne u probavnom traktu. Tako je apsorpcija PAH-ova hranom veća kod gorke hrane kod štakora. Apsorpcija ovisi o molekulskoj masi i manja je kod PAH-ova više molekulske mase. Istraživanja su pokazala da se PAH-ovi veće molekulske mase teže apsorbiraju od onih manje molekulske mase, ta da ne mogu prijeći u mlijeko (Bulder i sur., 2006).

Bioraspoloživost PAH-ova unesenih hranom je 20-25 %, a veća je (40-45%) ukoliko su uneseni s hranom koja sadrži veću količinu lipida jer su PAH-ovi lipofilni (SCF, 2002). Kod

ingestije PAH-ova hranom može doći i do lokalnog trovanja jer neki dijelovi probavnog trakta sadrže enzime kojima počinje aktiviranje PAH-ova (npr. rak jednjaka) (Kamangar i sur., 2008).

2. 5. 2. DISTRIBUCIJA PAH-OVA

Distribucija ovisi o načinu apsorpcije, vremenu izloženosti, izloženoj površini, liječenju nakon akutne izloženosti i prisutnosti inhibitora ili efektor. PAH-ovi su nađeni skoro u svim tkivima, što pokazuje da se jednoliko distribuiraju. Međutim, zbog lipofilnosti, veća koncentracija PAH-ova je uvijek u organima koji sadrže više masnog tkiva. Visoke količine PAH-ova također su nađene i u gastrointestinalnom traktu kod glodavaca koji su unijeli PAH-ove oralno (EFSA, 2008).

Mjesta spremanja PAH-ova su masno tkivo, jetra, bubrezi, slezena, nadbubrežna žlijezda i jajnici. Masno tkivo služi kao depozitno tkivo za PAH-ove, odakle se sporo ispušta u ostala tkiva. Distribucija PAH-ova u glodavaca se ispituje tako da se uzimaju uzorci tkiva glodavaca nakon izloženosti PAH-ovima te se testira količina PAH-ova i metabolita u tkivima. Kada je BaP bio unesen u venozni sustav glodavaca, brzo je bio uklonjen iz krvi, a poluvrijeme distribucije bilo je manje od 1 minute (SCF, 2002).

Analiza koncentracije PAH-ova u tkivima autopsijom može pokazati dugotrajno skladištenje i distribuciju PAH-ova kod ljudi. Autopsijom iz 1975. godine izmjereno je prosječno 3,2 µg/kg tkiva PAH-ova u jetri, slezeni, srcu, mišićima, a 2 µg/kg tkiva PAH-ova u plućima (EFSA, 2008). Godine 1981. provedeno je slično istraživanje, u kojem su dobivene vrijednosti koncentracije nekih PAH-ova u jetri i masnom tkivu. Koncentracija PAH-ova, najviše pirena, u jetri bila je u prosjeku 0,38 µg/kg tkiva u jetri, a u masnom tkivu 1,1 µg/kg tkiva (Obana i sur., 1981).

2. 5. 2. 1. *PROLAZ PAH-OVA KROZ BARIJERE*

2. 5. 2. 1. 1. *Hematoencefalna barijera*

Neki PAH-ovi su nađeni u mozgu štakora, a dokazan je i prijelaz PAH-ova kroz hematoencefalnu barijeru kod lubina (Almeida i sur., 2012). PAH-ovi mogu proći kroz barijeru između krvi i mozga, što nije iznenađujuće jer su lipofilni. Moždanu barijeru prolazi BaP, benz(a)antracen, krizen, fluoranten, piren, i neki metaboliti BaP (BaP-trans-4,5-dihidrodiol, BaP-trans-7,8-dihidrodiol i BaP-trans-9,10-dihidrodiol) (EFSA, 2008).

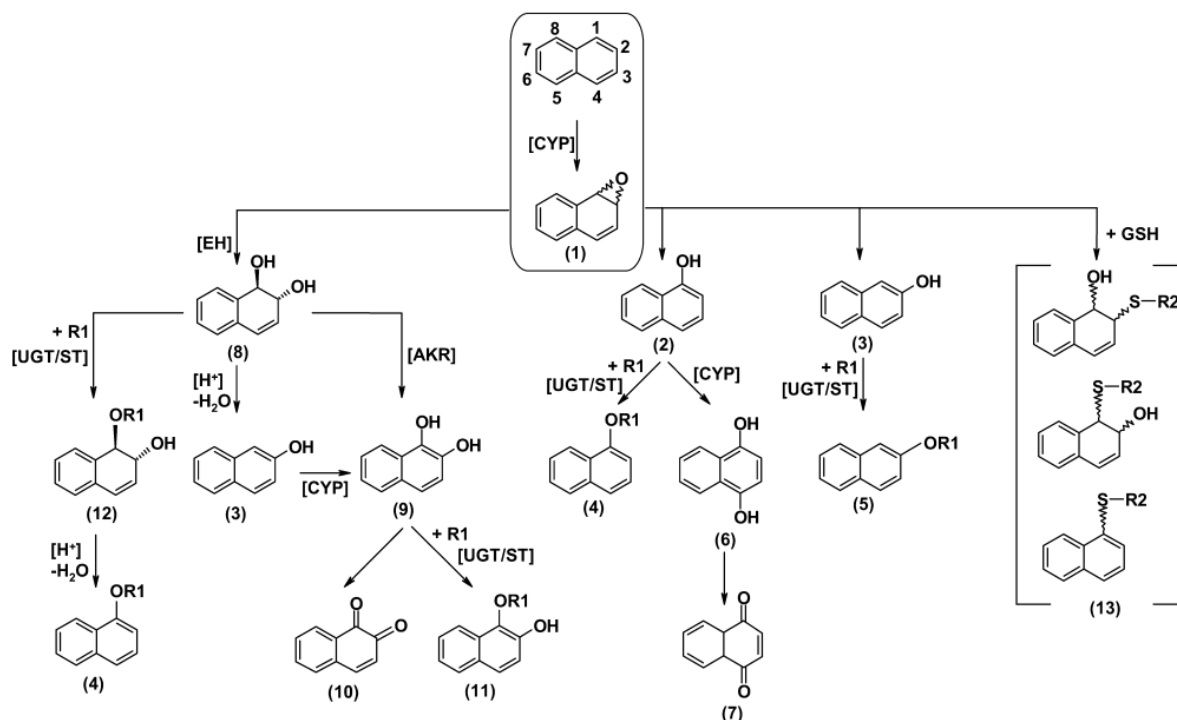
2. 5. 2. 1. 2. Placentalna barijera

PAH-ovi mogu proći placentalnu barijeru u ljudi i u glodavaca. Ispitivanje količine PAH-ova u posteljici i pupčanoj vrpici kod ljudi pokazalo je prisutnost benz(a)pirena, dibenz(a,c)antracena i krizena (Madhavan i Naidu, 1995; Perera i sur., 2011). Količine navedenih PAH-ova bile su malo iznad limita detekcije u pola uzoraka, ali je dokazano da su fetusi i novorođenčad bili izloženi PAH-ovima iz majčine prehrane. Kroz barijeru sigurno prolaze BaP, 7,12-dimetilbenz(a)antracen i 3-metilklorantren.

Istraživanja označenim ^{14}C 3-metilklorantrenom pokazala su način na koji se distribuiraju PAH-ovi u tijelu glodavaca, a isti princip se koristio i na trudnim glodavcima kako bi se ustanovio prijenos na plod i distribucija u tijelu ploda. Radioaktivnost ^{14}C je bila distribuirana u svim majčinim tkivima, ali i tkivima ploda, što je još jedan dokaz da PAH-ovi mogu prijeći kroz placentalnu barijeru kod glodavaca (Laurent i sur., 2002).

2. 5. 3. METABOLIZAM PAH-OVA

Metabolizam PAH-ova važno je objasniti kako bi u potpunosti razumjeli toksikološke učinke PAH-ova. Neki koraci nisu u potpunosti razjašnjeni, ali su predloženi mehanizmi kemijskih reakcija. Metabolizam PAH-ova se dijeli na biotransformacije faze I i biotransformacije faze II. PAH-ovi se metaboliziraju na način da ih se prvo prevodi u metabolite koji imaju veću polarnost u odnosu na aromatske prstenove, što predstavlja fazu I. Povećanjem polarnosti postaju topivi u vodi, te tako mogu biti lakše izlučeni (urinom). Ukoliko se ne izlučuju, ulaze u reakcije faze II. PAH-ovi koji se ne prevode u polarnije metabolite, ostaju lipofilni i nakupljaju se u masnom tkivu i organima. Glavni metabolički putevi naftalena kao primjer metabolizma PAH-ova u sisavaca prikazani su na slici 1. Biostransformacije PAH-ova mogu inaktivirati njihovo toksično djelovanje, ali ga mogu i aktivirati ili pojačati.



Slika 1. Glavni metabolički putevi naftalena u sisavaca (prema Preuss i sur., 2003): (1) naftalen-1,2-epoksid; (2) 1-naftol; (3) 2- naftol; (4) 1- naftilglukuronid/-sulfat; (5) 2- naftilglukuronid/-sulfat; (6) 1,4-dihidroksinaftalen; (7) 1,4-naftokvinon; (8) trans-1,2-dihidroksinaftalen; (9) 1,2-dihidroksinaftalen; (10) 1,2-naftokinon; (11) 2-hidroksinaftil-1-glukuronid/-sulfat; (12) trans-1,2-dihidro-2-hidroksinaftil-1-glukuronid/-sulfat; (13) naftil derivat merkapturine kiseline. UGT/ST UDP-glukuroniltransferaza/sulfotransferaza, GSH glutation-SH, R1: glukuronska kiselina/sulfat ostatak; R2: N-acetil-L-cistein ostatak

2. 5. 3. 1. BIOSTRANFORMACIJE FAZE I

Faza I uključuje povećanje polarnosti PAH-ova dodavanjem funkcionalnih grupa koje su polarne. Dodavanjem polarnih funkcionalnih grupa PAH-ovima se povećava reaktivnost, pa time i toksičnost. Prepreke koje je do sada stvarala lipofilnost i topivost u mastima (a ne u vodi) PAH-ova za distribuciju i toksično djelovanje sada više nema jer postaju hidrofilni. Nakon biotransformacija faze I mogu postati genotoksični ili kancerogeni jer sada mogu reagirati s DNA ili ući u reakcije faze II. Produkti faze I biotransformacija PAH-ova su kinoni, fenoli, dihidrodiole, trioli i tetrole. Primarni produkti faze I biotransformacija pirena i BaP su epoksidi, fenoli, dihidrodiole, a sekundarni produkti faze I biotransformacija pirena i BaP su diol epoksidi, tetrahidroterole, fenol epoksidi. Metabolička aktivacija većine PAH-ova je slična i u njoj sudjeluju isti enzimi. PAH-ove metaboliziraju citokrom P-450 monooksigenaze: CYP-1A1, CYP-1A2, CYP-1B1, CYP-3A7, CYP-3A5, CYP-2E1 i CYP-2B4. (Beach i sur., 2010; EFSA, 2008; Seo i sur., 2009).

2. 5. 3. 2. BIOTRANSFORMACIJE FAZE II

Biotransformacije faze II najčešće uključuju konjugacije s glutationom, aktiviranom glukuronskom kiselinom ili sulfatom. Značajno je povećanje topivosti u vodi i veća mogućnost izlučivanja. Krajnji metabolit faze II kod pirena, odnosno piren hidroksida nastalog u reakcijama biotransformacija faze I je konjugat sa sulfatom, odnosno aktiviranom glukuronskom kiselinom. Biotransformacije faze II se još istražuju i mehanizmi su uglavnom pretpostavljeni, a istraživanja se često provode na mekušcima i drugim vodenim organizmima. Objašnjeno je više mogućih puteva biotransformacija, u kojima su nastali različiti metaboliti (npr. 1-hidroksipiren, piren-1-sulfat, piren-1-glukuronid, piren glukoza sulfat, dva izomera pirendiol sulfata i pirendiol disulfata). Slijed biotransformacija faze II kod većine istraživanih beskrležnjaka je: piren-1-sulfat, piren-1-glukuronid, piren-1-glukozid (Beach i sur., 2010; Jørgensen i sur., 2008).

2. 5. 3. 3. METABOLIZIRANJE PAH-OVA KOD PROKARIOTA

Neke bakterije imaju mogućnost metabolizma PAH-ova kao izvora energije. Predloženi su mehanizmi razgradnje PAH-ova na osnovu spojeva nađenih kao produkata metabolizma bakterija u istraživanjima. Ispitivane bakterije rodova *Alcaligenes*, *Burkholderia*, *Mycobacterium*, *Polaromonas*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas* i *Streptomyces* metabolizirale su naftalen do salicilata koji se može dalje degradirati ili metabolizirati u acetaldehid i piruvat ili sukcinat i acetil CoA (Seo i sur., 2009).

Neke bakterije (*Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Burkholderia*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* i *Sphingomonas*) mogu metabolizirati fluoren. Pretpostavlja se da krajnji produkt može biti 3-kromanon, 4-hidroksi-9-fluorenon, 4-karboksi-2-hidroksimukonska kiselina i salicilna kiselina. Fenantren u prokariota može služiti kao izvor energije. Krajnji produkt metabolizma fenantrena u bakterija može biti npr. gentizinska kiselina prema pretpostavljenim mehanizmima. Izolirana bakterija iz roda *Pseudomonas* koristila je fenantren kao jedini izvor energije. *Mycobacterium* mogu transformirati fluoranten do benzen-1,2,3-trikarboksilne kiseline ili fluorena. Piren mogu probaviti neke gram-pozitivne bakterije i *Mycobacterium*, te ga mogu koristiti kao izvor energije. Produkti razgradnje pirena mogu biti npr. piren-*cis*-4,5-dihidrodiol, piren-*trans*-4,5-dihidrodiol i pirenol, 4-hidroksi perinaftenon, ftalna kiselina i cimetna kiselina (Kanaly i Harayama, 2000; Seo i sur., 2009).

Benz(a)piren je slabije metaboliziran od bakterija u odnosu na ostale PAH-ove. Općenito, postoji vrlo malo informacija o bakterijskoj razgradnji PAH-ova s pet ili više prstenova, ali

poznato je da nekoliko bakterijskih vrsta može razgraditi BaP (*Mycobacterium* sp., *Sphingomonas paucimobilis* i *Stenotrophomonas maltophilia*). Produkti predloženih mehanizama su: krizen-4-karboksilna kiselina, 7,8-dihidro-piren-8-karboksilna kiselina, 7,5-dihidro-piren-7-karboksilna kiselina, dimetoksibenz(a)piren i drugi spojevi, uglavnom karboksilne kiseline s aromatskim prstenovima (Kanaly i Harayama, 2000; Seo i sur., 2009).

2. 5. 4. IZLUČIVANJE PAH-OVA

Izlučivanje PAH-ova je najčešće urinom, te se tako lako može identificirati trovanje. Manji dio se izlučuje žuči i fecesom, a neznatni znojem, slinom, suzama i mlijekom.

Izlučivanje oralno unesenog naftalena kod životinja je 77-93 % u mokraći, a tek 6-7 % fecesom. Eliminacija zrakom kroz pluća, preko kože i znojenjem je zabilježena u nekih životinja, ali samo u nekim istraživanjima i to u niskim postocima (oko 2-4 %) (Preuss i sur., 2003).

Glavno mjesto metabolizma PAH-ova kod riba je jetra, a produkti biotransformacija se spremaju u žuč. Moguća je resorpcija metabolita PAH-ova zato što se putem žuči vraćaju u probavni sustav gdje postaju hidrofobniji, nakon čega se apsorbiraju i vraćaju u jetru (Beyer i sur., 2010). *In vivo* istraživanje na miševima pokazalo je da u kruženju PAH-ova postoji enterohepatička cirkulacija (EFSA, 2008).

2. 5. 4. 1. TRANSFER PAH-OVA U KRAVLJE MLIJEKO

Transfer u mlijeko je najviši za hidroksilirane metabolite PAH-ova, odnosno PAH-ove kojima je dodana hidroksilna skupina u reakcijama faze I biotransformacija. Nemetabolizirani PAH-ovi nađeni u mlijeku krava koje su živjele blizu onečišćenja PAH-ovima su: naftalen, acenaftilen, acenaften, fluoren, antracen, fluoranten, piren i benz(a)antracen. Nađeni su u niskim koncentracijama, osim fluorena i naftalena. Koncentracija PAH-ova bila je od 0,1 do 16,2 ng/g masti u mlijeku (Grova i sur., 2002).

2. 5. 4. 2. BIOMARKERI

Određivanje PAH-ova u organizmima je teško iz razloga što većina organizama ima sposobnost metabolizma PAH-ova, zbog čega je potrebno znati koji su svi mogući metaboliti PAH-ova te je potrebno detektirati i metabolite.

Većina beskralježnjaka ne metabolizira PAH-ove u toliko velikoj mjeri kao kod kralježnjaka, već uglavnom prolaze samo faze I biotransformacija nakon čega se izlučuju ili akumuliraju u tkivima. Kod beskralježnjaka se tako mogu koristiti produkti faze I (uglavnom hidroksilirani PAH-ovi) kao biomarkeri izloženosti PAH-ovima. Najistaknutiji biomarker koji se koristi za detekciju izloženosti PAH-ovima kod ljudi je količina hidroksiliranih metabolita nekih PAH-ova koji se izlučuju urinom: 1-hidroksipiren, hidroksinaftalen i hidroksifenantren. Kao biomarkeri kod kralježnjaka mogu se koristiti količina fluorescentnih aromatskih spojeva u žuči ili promjene na DNA. Do promjena na DNA dolazi zbog aktivacije određenih enzima (citokrom P450-1A). Međutim, za navedene biomarkere nije u potpunosti dokazana povezanost s izloženošću PAH-ovima (Boström i sur., 2002; EFSA, 2008).

2. 6. TOKSIČNOST PAH-OVA

2. 6. 1. AKUTNA TOKSIČNOST PAH-OVA

Akutna toksičnost PAH-ova ovisi o načinu i vremenu ekspozicije, dobi, spolu i zdravstvenom stanju osobe te koncentraciji PAH-ova kojoj je osoba bila izložena. Simptomi akutne toksičnosti nakon otrovanja PAH-ovima mogu biti iritacija oka, mučnina, povraćanje, dijareja, iritacija i upalni procesi. Simptomi i način odgovora ovise o strukturi PAH-ova, pa tako neki mogu izazvati alergije (BaP), a neki samo iritaciju na koži (naftalen) (Kim i sur., 2013). Doza kod koje će nastupiti akutna toksičnost ovisi o spoju i životinji, a vrijednosti se kreću od 50 mg/kg tjelesne mase za benz(a)piren i 56 mg/kg tjelesne mase za fenantren kod miševa, a izmjereno je i do nekoliko tisuća mg/kg tjelesne mase za manje toksične PAH-ove (SCF, 2002). LD₅₀ vrijednosti najčešćih PAH-ova su prikazane u tablici 3, a LC₅₀ vrijednosti u tablici 4.

Primjer akutne toksičnosti je i trovanje jednjaka PAH-ovima koji su uneseni oralnim putem. Stanice jednjaka sadrže receptore arilnih ugljikovodila na koje se vežu PAH-ovi i enzime koji su nužni za aktivaciju PAH-ova (reakcije faze I biotransformacija). Do pojave raka jednjaka koji su uzrokovali PAH-ovi dolazi bez sistemskog trovanja i bez metaboliziranja PAH-ova u jetri (Kamangar i sur., 2008). Akutna toksičnost PAH-ova dokazana je na psima, koji su oralno konzumirali ukupno 10,5 g naftalena kroz 7 dana. Došlo je do pojave anemije i neurofizioloških simptoma (SCF, 2002; Zuelzer i Apt, 1949)

Tablica 3. LD₅₀ vrijednosti nekih PAH-ova (prema IPCS, 1998)

PAH	LD ₅₀ (mg/kgTM)	Test životinja	Način unosa
Antracen	>430	Miš	Intraperitonealno
Antracen	18000	Miš	Oralno
Benz(a)piren	>1600	Miš	Oralno
Benz(a)piren	~250; >1600*	Miš	Intraperitonealno
Benz(a)piren	50	Štakor	Subkotalno
Krisen	320	Miš	Intraperitonealno
Fluoranten	2000	Štakor	Oralno
Fluoranten	3180	Zec	Dermalno
Fluoranten	100	Miš	Intravenozno
Naftalen	490	Štakor	Oralno
Naftalen	>2500	Štakor	Dermalno
Naftalen	1000-1600	Štakor	Intraperitonealno
Naftalen	354; 710; 533*	Miš	Oralno
Naftalen	5100, 969*	Miš	Subkutano
Naftalen	~400; 150; 380*	Miš	Intraperitonealno
Naftalen	100	Miš	Intravenozno
Naftalen	1200	Zamorac	Oralni
Naftalen	~800	Hrčak	Intraperitonealno
Fenantren	700; 100	Miš	Oralno
Fenantren	700	Miš	Intraperitonealno
Fenantren	56	Miš	Intravenozno
Piren	514-678**	Miš	Intraperitonealno

*razlike među istraživanjima i/li autorima

** razlike s obzirom na vrijeme izlaganja (izlaganje 7 dana - niži LD₅₀, izlaganje 4 dana – viši LD₅₀)

Tablica 4. LC₅₀ vrijednosti nekih PAH-ova za vodenbuhu nakon 96h izloženosti (prema MELP-BC, 1993)

PAH	LC ₅₀ (µg/L)	Test životinja
Naftalen	1000	<i>Daphnia pulex</i>
Fenantren	100	<i>Daphnia pulex</i>
Benz(a)piren	5	<i>Daphnia pulex</i>

2. 6. 2. KRONIČNA TOKSIČNOST PAH-OVA

Kronična izloženost PAH-ovima najčešće je izloženost na radnom mjestu, odnosno u radnom okolišu. Najčešći način izlaganja kod kronične toksičnosti PAH-ovima je udisanjem i za ovaj način apsorpcije je provedeno najviše istraživanja (Kim i sur., 2013). Oralna i dermalna izloženost je naravno prisutna, ali učinci nisu toliko istraženi.

Kronična izloženost PAH-ovima također je prisutna kod dugogodišnjih pušača i pasivnog pušenja. Među radnicima koji su izloženi različitim PAH-ovima tijekom radnog vijeka često je veća pojavnost raka kože, pluća, mokraćnog mjehura i probavnog trakta. Osim što su kancerogeni, mogu uzrokovati i druge defekte koji su također dokazani na pokusnim životinjama: reproduktivni defekti i defekti u razvoju, oštećenja jetre i bubrega, žutica i upalni procesi na koži. Radnici koji rade na mjestima gdje mogu biti izloženi PAH-ovima (industrija prerade metala, prisutnost ugljena, koksa) često su izloženi i drugim kemijskim spojevima koji mogu reagirati s PAH-ovima, te si međusobno inhibirati ili povećati toksično djelovanje. Zbog toga je kod ljudi teško odrediti djelovanje samih PAH spojeva kada je usko povezano s drugim kemijskim spojevima. PAH-ovi mogu djelovati na hormonske sustave i tako imaju štetan učinak na reprodukciju i imunološke funkcije (Kim i sur., 2013; SCF, 2002).

2. 6. 3. KANCEROGENOST

Kancerogeni spojevi su spojevi koji mogu uzrokovati razvoj raka uzrokujući mutacije genetskog koda. Takva DNA ne može imati normalnu funkciju. Ne uzrokuju sve mutacije na DNA rak, ali neke mogu biti uzrok stvaranju stanica raka (EFSA, 2008).

Kancerogenost nekog kemijskog spoja prvi put je uočena krajem 18. stoljeća. Sir Percival Pott, kirurg iz Londona je 1775. uočio veću pojavnost raka skrotuma kod dimnjačara. Ti dimnjačari su udisali veće količine PAH-ova, u odnosu na ostatak populacije. Tako su PAH-ovi prvi spojevi za koje je uočeno kancerogeno djelovanje. Od tada, PAH-ovi su proučavani i testirana je njihova kancerogenost (Boström i sur., 2002).

PAH-ovi su često prisutni u hrani, a primjer kod kojeg je uočena kancerogenost PAH-ova unesenih hranom je *mate* čaj. Konzumiranje *mate* čaja se povezuje s češćom pojavnošću raka jednjaka, dušnika, grkljana, pluća, bubrega i mokraćnog mjehura u populacijama u Južnoj Americi (južni Brazil, sjeveroistočna Argentina, Paragvaj i Urugvaj) gdje se taj napitak često konzumira. Istraživanje provedeno 2008. godine proučavalo je može li *mate* čaj uistinu uzrokovati ove bolesti. Mehanizam kancerogenosti *mate* čaja nije objašnjen, ali PAH-ovi

prisutni jednaku mogu biti apsorbirani i imati kancerogeno djelovanje (Kamangar i sur., 2008).

U *mate* čaju je nađeno 21 različitih PAH-ova, u koncentraciji od 536 do 2906 ng/g suhog lišća, od toga 8,03-53,3 ng/g za BaP. Iako su PAH-ovi hidrofobni, svejedno su bili prisutni u infuzijama pripremljenim od lišća *mate* čaja. Zbog toga je *mate* čaj prozvan potencijalno kancerogenim. Kancerogenost PAH-ova je dokazana u testovima na laboratorijskim životinjama - pokazana je incidencija raka kože, pluća, mokraćnog mjehura i sarkoma u životinja. Također je dokazano djelovanje PAH-ova na hematopoetski, imunološki, neurološki, reproduktivni sustav i razvoj (Kamangar i sur., 2008).

Dibenz(a,h)antracen je prvi PAH spoj kojem je dokazana kancerogenost. Početkom 20. stoljeća otkriveno je kako čađa, ugljen i katran imaju kancerogena svojstva, a epidemiološkim studijama kroz 20. stoljeće ta svojstva su pripisana djelovanju PAH-ova. BaP se smatra najkancerogenijim PAH-om. Kancerogenost BaP-a rezultat je mutagenih i epigenetičkih efekata. Aktivirani BaP može izazvati adukte DNA nakon čega stanica ne može vršiti transkripciju i tako je spriječena sinteza bjelančevina. Ti adukti se mogu popraviti enzimskim sustavima za popravljivanje DNA (Boström i sur., 2002).

PAH-ovi imaju visok afinitet prema citosolnim aril ugljikovodičnim receptorima i inhibiraju komunikaciju među stanicama (Boström i sur., 2002).

2. 6. 4. GENOTOKSIČNOST

Genotoksičnost je bitna kod objašnjavanja i određivanja kancerogenog djelovanja nekog spoja. Za većinu kancerogenih PAH-ova se smatra da imaju i genotoksične učinke, pa se o tome rade brojna istraživanja. Prvotno, istraživanja na limfocitima kod radnika koji su bili izloženi PAH spojevima identificirala su adukte DNA djelovanjem PAH-ova. Radnici u ljevaonicama željeza koji su bili izloženi PAH-ovima su imali češće mutacije u HRPT lokusu u limfocita, sukladno DNA aduktima. Testiranje genotoksičnosti različitih PAH-ova (benz(j)fluoranten, BaP, krizen, dibenz(a,l)piren, fluoranten i drugi) na bakterijskim stanicama *E. coli* pokazala je visoku genotoksičnost ovih spojeva prisutnu uz mješavinu metaboličkih aktivatora. BaP, benz(a)antracen i krizen su također pokazali genotoksične učinke u laboratorijskim istraživanjima na glodavcima. Na osnovu tih podataka nije procijenjen rizik od genotoksičnosti PAH-ova jer su učinci na bakterije i glodavce u ovom slučaju teško prenosivi na ljude. Osim BaP, benz(a)antracena i krizena za ostale PAH-ove

dokazi genotoksičnosti su ograničeni jer su svi dobiveni u *in vitro* studijama (Boström i sur., 2002).

2. 6. 5. TERATOGENOST

PAH-ovi su lipofilni spojevi, zbog čega mogu prijeći membrane, između kojih je i placentalna membrana. Biotransformacijama PAH-ova moguće je nastajanje spojeva koji su reaktivni međuprodukti i mogu reagirati kovalentno s DNA, nakon čega dolazi do trajnih oštećenja ploda. Benz(a)antracen, BaP i naftalen su spojevi kod kojih su na eksperimentalnim životinjama dokazani teratogeni učinci (EFSA, 2008).

Testiranjima na miševima koji su ingestirali velike količine BaP-a tijekom trudnoće pokazano je da BaP uzrokuje defekte ploda i smanjenu porođajnu masu potomaka. Slično tome, u SAD-u je centar za zdravlje okoliša (*US's Center for Children's Environmental Health* (CCEH)) pokazao povezanost niske porođajne mase s izloženošću PAH-ovima tijekom trudnoće. Smanjenu porođajnu masu novorođenčadi čije su majke bile izložene PAH-ovima u odnosu na novorođenčad majki koje nisu bile izložene PAH-ovima dokazala je i kohortna studija s ljudima. Veća izloženost PAH-ovima tijekom trudnoće dokazano je imala kao posljedicu smanjeni kvocijent inteligencije djece u dobi od 3 godine, povećanje problema u ponašanju kod djece od 6 do 8 godina starosti i astmu kod djece (Edwards i sur. 2010; Perera i sur., 2011; Wang, 2010). Pojavnost gastroshiza je bila povećana kod djece čije su majke bile dugo izložene PAH-ovima na radnom mjestu kroz 20 godina (Kim i sur., 2013). Izloženost PAH-ovima u ranom gestacijskom periodu (1. mjesec trudnoće) može imati štetne utjecaje za plod (Dejmek i sur., 2000). PAH-ovi imaju najveći utjecaj na sporiji rast ploda. Izravno moduliraju proliferaciju trofoblasta jer reagiraju s receptorima za placentalne faktore rasta. Zbog toga može biti smanjen prijenos kisika i nutrijenata u fetus (Perera i sur., 2011; SCF, 2002). Međutim, potrebna su daljnja istraživanja utjecaja PAH-ova na razvoj ploda jer rezultati istraživanja uvijek mogu biti uvjetovani genetskim predispozicijama roditelja.

PAH-ovi iz cigareta uništavaju male oocite. Nisu nađeni dokazi o utjecaju PAH-ova na fertilitet, ali je pronađena korelacija između pušenja i ranije menopauze. Kod nepušačica je menopauza dolazila u prosjeku godinu dana kasnije u odnosu na žene koje su pušile 1 kutiju cigareta dnevno (Mattison i Schulman, 1980).

2. 6. 6. FOTOTOKSIČNOST

Svjetlost inducira toksičnost PAH-ova i aktivira ih. PAH-ovi apsorbiraju svjetlost valnih duljina u UVA (320-400 nm) i VIS (400-800 nm) dijelu spektra, ovisno o molekulskoj masi. PAH-ovi s 3 ili 4 aromatska prstena apsorbiraju u UVA, a s 5 ili više aromatska prstena i supstituirani (amino i nitro-supstituirani PAH) u VIS (Yu, 2012).

Pod utjecajem svjetlosti, PAH spojevi prelaze na viši energetska nivo (singlet ili triplet) i prenose elektron ili energiju. Tako u pobuđenom stanju PAH-ovi mogu reagirati s kisikom ili drugim molekulama i generirati reaktivne intermedijere. Reaktivni intermedijeri koji nastaju fotoaktivacijom PAH-ova mogu inicirati stvaranje slobodnih radikala u stanicama i tkivima, što uzrokuje oksidacijski stres koji može uzrokovati smrt stanice. Mogu uzrokovati promjene u staničnoj membrani, nukleinskim kiselinama i bjelančevinama u stanici. Na taj način PAH-ovi aktivirani svjetlošću postaju toksični, uključujući kancerogenost. Fotoaktivacija PAH-ova povećava im toksicitet i do 10000 puta. Slobodni radikali najčešće djeluju na strukturu DNA, lipide i membranske proteine, što uzrokuje lipidnu peroksidaciju i propadanje membrane, zbog čega više nema kontrole prijenosa iona u stanicu. Fototoksičnost PAH-ova tako je jače izražena u vodenom okolišu, gdje se utjecaj zraka svjetlosti povećava zbog transparentnosti vode i načinu lomljenja zraka kroz vodu. Ovo je osobito opasno za životinje koje žive u vodenom okolišu. Primjer takve životinje je zebrasta ribica, koja se koristi kao model za istraživanje fototoksičnosti PAH-ova. Istraživanje na mladim zebrastim ribicama pokazalo je da su antracen i piren izuzetno fototoksični, a fototoksičnost je znatno slabije izražena kod karbazola i fenantrena. Fototoksičnost PAH-ova je aditivna – u smjesama s drugim ksenobioticima (bojama, drugim PAH-ovima) povećavaju fototoksičnost (Yu, 2012; Willis i Oris, 2014).

2. 7. PROCJENA RIZIKA PAH-OVA

Rizici trovanja PAH-ovima se mogu procijeniti tako da se zbroji rizik trovanja svih prisutnih PAH-ova ili korištenjem benz(a)pirena kao indikatora rizika za smjesu PAH-ova.

Kod prvog načina, zbroj bi se dobio iz krivulja doze i odgovora formiranih na temelju istraživanja na životinjama za pojedine PAH-ove. Rizik od pojavljivanja raka za određeni kemijski spoj u određenoj dozi određuje se korištenjem nagiba krivulje doza-odgovor i odgovarajuće doze (Chen i Chu, 2008).

2. 7. 1. FAKTOR EKVIVALENTNE TOKSIČNOSTI PAH-OVA

Faktor ekvivalentne toksičnosti ili TEF (eng. *toxic equivalency factor*) je način označavanja toksičnosti PAH-ova. Za određivanje TEF vrijednosti za određeni PAH, za referencu se koristi BaP, budući da je najviše istraživani i testiran, te je najviše puta dokazana kancerogenost. TEF vrijednosti za neke PAH-ove su navedene u tablici 5. Te vrijednosti uspoređuju relativnu toksičnost različitih spojeva ili mješavina spojeva, a zbrajanjem TEF vrijednosti spojeva se dobiva TEF vrijednost mješavine spojeva. Tako možemo odrediti faktor ekvivalentne toksičnosti za smjesu PAH-ova (npr. u zraku) ukoliko znamo koncentraciju PAH-ova pojedinačno i njihove TEF vrijednosti (Nisbet i LaGoy, 1992).

Tablica 5. TEF vrijednosti nekih PAH-ova (prema Nisbet i LaGoy, 1992)

Spoj	TEF vrijednost
Benz(a)piren	1
Dibenz(a,h)antracen	1 ili 5*
Benz(a)antracen	0,1
Benz(a)fluoranten	0,1
Indol(123-cd)piren	0,1
Antracen	0,01
Benz(k)fluoranten	0,01
Benz(ghi)piren	0,01
Naftalen	0,001
Fluoren	0,001
Fenantren	0,001
Fluoranten	0,001
Piren	0,001
Krizen	0,001-0,01

*TEF vrijednost je 1, međutim prema autoru bi vrijednost 5 bila prikladnija vrijednost zbog izloženosti dibenz(a,h)antracenu.

3. ZAKLJUČAK

Policiklički aromatski ugljikovodici nastaju izgaranjem organske tvari uglavnom pri temperaturama od 650 do 900°C, a građeni su od dva ili više aromatskih prstenova.

Iako mogu nastati u prirodi (npr. šumskim požarima ili udarima groma), PAH-ovi najčešće nastaju kao rezultat ljudskog djelovanja (npr. industrija, poljoprivreda, grijanje, promet). Prisutni su u okolišu (u zraku, vodama, tlu) i u hrani, kamo dopijevaju zagađenjem okoliša ili nastaju tijekom procesiranja. Dimljenje, sušenje, pečenje i prženje hrane su neki od načina procesiranja hrane tijekom kojih nastaje značajna količina PAH-ova u hrani. Najčešće su to benz(a)piren, piren, benz(a)antracen, dibenz(a,h)antracen, antracen, krizen, fluoranten i benz(b)fluoranten. Veće količine PAH-ova nalaze se u termički obrađenom mesu i ribi, biljnim uljima, kavi i čaju, a manje u žitaricama, voću i povrću i konditorima.

Zbog ozbiljnosti utjecaja na zdravlje životne zajednice, prepoznata je opasnost te se kontinuirano provode mjerenja izloženosti i analizira rizika. Poduzimaju se mjere smanjenja količine PAH-ova u zraku, a postavljene su i zakonske regulative o najvišim dopuštenim količinama PAH-ova u hrani po skupinama namirnica. Razvijeni su neki postupci kojima se PAH-ovi mogu djelomično ukloniti iz okoliša, kao i postupci kojima se može smanjiti tvorba PAH-ova u hrani. Apsorpcija PAH-ova kod ljudi najčešća je ingestijom ili inhalacijom, pa se unos PAH-ova u ljudi može smanjiti samo ako se smanji njihova količina u hrani, vodi i zraku.

Biotransformacije PAH-ova nisu u potpunosti razjašnjene, ali su mehanizmi nekih puteva predloženi i detaljno istraženi kod prokariota i nekih vodenih organizama. Policiklički aromatski ugljikovodici su toksikanti za koje je dokazano kancerogeno (rak kože, pluća, mokraćnog mjehura i sarkoma u životinja), teratogeno, genotoksično i fototoksično djelovanje. Po detektiranim PAH-ovima u tkivu mozga, placente i pupčanoj vrpici može se zaključiti da prolaze kroz biološke barijere, što je bitan čimbenik za njihovo toksično djelovanje. Većina istraživanja toksičnosti PAH-ova se provodi na životinjama, ali neka su istraživanja provedena na ljudima proučavanjem povezanosti veće izloženosti PAH-ova s većom incidencijom bolesti. Najčešće je istraživana toksičnost benz(a)pirena.

Budući da su ovi spojevi sveprisutni u okolišu, a izrazito opasni za ljudsko zdravlje, potrebno je dokazati i bolje objasniti toksičnost PAH-ova kako bi se detaljnije mogli procijeniti i smanjiti rizici nastajanja bolesti zbog izloženosti PAH-ovima.

4. POPIS LITERATURE

- Almeida, J. R., Gravato, C., Guilhermino, L. (2012) Challenges in assessing the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons to marine organisms: a case study on the acute toxicity of pyrene to the European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Chemosphere* **86**, 926-937.
- Bansal, V., Kim, K.-H. (2015) Review of PAH contamination in food products and their health hazards. *Environ. int.* **84**, 26–38.
- Beach, D. G., Quilliam, M. A., Rouleau, C., Croll, R. P., Hellou, J. (2010) Bioaccumulation and biotransformation of pyrene and 1-hydroxypyrene by the marine whelk *Buccinum undatum*. *Environ. Toxicol. Chem.* **29**, 779-788.
- Beyer, J., Jonsson, G., Porte, C., Krahn, M. M., Ariese, F. (2010) Analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollutants in fish bile: a review. *Environ. Toxicol. Phar.* **30**, 224-244.
- Bodzek, D., Luks-Betlej, K., Warzecha, L. (1993) Determination of particle-associated polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air samples from the upper Silesia region of Poland. Part A. General Topics. *Atmos. environ.* **27**, 759-764.
- Boström, C. E., Gerde, P., Hanberg, A., Jernström, B., Johansson, C., Kyrklund, T., Rannug, A., Törnqvist, M., Victorin, K., Westerholm, R. (2002) Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environ. Health Persp.* **110**, 451-488.
- Bulder, A. S., Hoogenboom, L. A. P., Kan, C. A., van Raamsdonk, L. W. D., Traag, W. A., Bouwmeester, H. (2006) Initial Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Feed (materials). Risk assessment of unregulated contaminants in animal feed Project. Institute of Food Safety, Wageningen, The Netherlands.
- Butler, J. D., Butterworth, V., Kellow, S. C., Robinson, H. G. (1984) Some observations on the polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content of surface soils in urban areas. *Sci. Total Environ.* **33**, 75-85.
- Chen, C., Chu, M. (2008) Dose-Response Analysis of Ingested Benzo[a]pyrene. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/R-92/045

- Chen, J., Chen, S. (2005) Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by low density polyethylene from liquid model and roasted meat. *Food Chem.* **90**, 461-469.
- Chen, S.-J., Sua, H.-B., Chang, J.-E., Leeb, W.-J., Huang, K.-L., Hsieh, L.-T., Huang, Y.-C., Lind, W.-Y., Lina, C.-C. (2007) Emissions of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from the pyrolysis of scrap tires. *Atmos. Environ.* **41**, 1209–1220.
- De Vos, R. H. H., Van Dookum, W., Schouten, A., De Jong-Berkhout, O. (1990) Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986.). *Food Chem. Toxicol.* **28**, 263-268.
- Dejmek, J., Solansky, I., Beneš, I., Leníček, J., Šrám, R. J. (2000) The Impact of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Fine Particles on Pregnancy Outcome. *Environ. Health Persp.* **108**, 1159-1164.
- Edwards, S. C., Jedrychowski, M. B., Caman, D., Kieltyka, A., Mroz, E., Flak, E., Li, Z., Wang, S., Rauh, V., Perera, F. (2010) Prenatal Exposure to Airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Children's Intelligence at 5 Years of Age in a Prospective Cohort Study in Poland. *Environ. Health Persp.* **118**, 1326-1331.
- EEA (2015) Persistent organic pollutant emissions. EEA - European Environment Agency, <<http://www.eea.europa.eu/data-and-maps/indicators/eea32-persistent-organic-pollutant-pop-emissions-1/assessment-5>>. Pristupljeno 3. travnja 2016.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2008) Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. *EFSA Journal* **724**, 1-114.
- EMEP (2013) EMEP/EEA air pollutant emission inventory guidebook. EMEP - The European Monitoring and Evaluation Programme, EEA - European Environment agency, <<http://www.eea.europa.eu/publications/emep-eea-guidebook-2013/part-b-sectoral-guidance-chapters/11-natural-sources/11-b-forest-fires>>. Pristupljeno: 2. travnja 2016.
- Europska komisija (2007) Uredba Komisije (EZ) br. 333/2007 od 28. ožujka 2007. o metodama uzorkovanja i analitičkim metodama za službenu kontrolu razina olova, kadmija, žive, anorganskog kositra, 3-MCPD-a i benzo(a)pirena u hrani.
- Europska komisija (2011) Uredba Komisije (EU) br. 835/2011 od 19. kolovoza 2011. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1881/2006 u pogledu najvećih dopuštenih količina za policikličke aromatske ugljikovodike u hrani.

- Europska komisija (2016) Uredba komisije (EU) 2016/582 od 15. travnja 2016. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 333/2007 u pogledu analize anorganskog arsena, olova i policikličkih aromatskih ugljikovodika i određenih izvedbenih kriterija za analizu.
- Evans, W. H., Thomas, N. C., Boardman, M. C., Nash, S. J. (1993) Relationships of polycyclic aromatic hydrocarbon yields with particulate matter (water and nicotine free) yields in mainstream and sidestream cigarette smoke. *Sci. Total Environ.* **136**, 101-109.
- Falco, G., Domingo, J. L., Llobet, J. M., Teixido, A., Casas, C., Muller, L. (2003) Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: human exposure through the diet in Catalonia, Spain. *J. Food Protect.* **66**, 2325-2331.
- Farhadian, A., Jinap, S., Hanifah, H. N., Zaidul, I. S. (2011). Effects of meat preheating and wrapping on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled meat. *Food chem.* **124**, 141-146.
- Grova, N., Feidt, C., Crépineau, C., Laurent, C., Lafargue, P. L., Hachimi, A., Rychen, G. (2002) Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon levels in milk collected near potential contamination sources. *J. Agr. Food Chem.* **50**, 4640-4642.
- Harvey, R. G. (1991) Polycyclic aromatic hydrocarbons: Chemistry and carcinogenicity, Cambridge Monographs on Cancer Research, University Press, Cambridge.
- Hopia, A., Pyysalo, H., Wickström, K. (1982) Margarines, Butter and Vegetable Oils as Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **63**, 889–893.
- HRN EN 15980:2011, Kvaliteta zraka – Određivanje taloženja benzo[a]antracene, benzo[b]fluorantena, benzo[j]fluorantena, benzo[k]fluorantena, benzo[a]pirena, dibenzo[a,h]antracena i indeno[1,2,3- cd]pirena (EN 15980:2011).
- Ignesti, G., Lodovici, M., Dolara, P., Lucia, P., Grechi, D. (1992) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Olive Fruits as a Measure of Air Pollution in the Valley of Florence (Italy) *B. Environ. Contam. Tox.* **48**, 809-814.
- IPCS (1998) Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. IPCS – International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc202.htm>>. Pristupljeno 5. kolovoza 2016.
- Jenkins, B. M., Jones, A. D., Turn, S. Q., Williams, R. B. (1996) Emission factors for polycyclic aromatic hydrocarbons from biomass burning. *Environ. Sci. Technol.* **30**, 2462–

- Jonsson, S., Persson, Y., Frankki, S., Van Bavel, B., Lundstedt, S., Haglund, P., Tysklind, M. (2006) Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in contaminated soils by Fenton's reagent: A multivariate evaluation of the importance of soil characteristics and PAH-properties. *J. Hazard. Mater.* **149**, 86–96.
- Jørgensen, A., Giessing, A. M. B., Rasmussen, L. J., Andersen, O. (2008) Biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine polychaetes. *Mar. Environ. Res.* **65**, 171-186.
- Kamangar, F., Schantz, M., Abnet, C. C., Fagundes, R. B., Dawsey, S. M. (2008) High Levels of Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mate Drinks. *Cancer Epidem. Biomar.* **17**, 1262-1268.
- Kanaly, R. A., Harayama, S. (2000) Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria. *J. Bacteriol.* **182**, 2059-2067.
- Khillare, P.S., Saurav Jyethi, D., Sarkar, D. (2012) Health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals via dietary intake of vegetables grown in the vicinity of thermal power plants. *Food Chem. Toxicol.* **50**, 1642–1652.
- Kim, K., Jahan, S. A., Kabir, E., Brown, R. J. C. (2013) A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environ. Int.* **60**, 71-80.
- Kipopoulou, A. M., Manoli, E., Samara, C. (1999) Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. *Environ. Pollut.* **106**, 369–380.
- Lamichhane, S., Krishna, K. B., Sarukkalige, R. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal by sorption: a review. *Chemosphere* **148**, 336-353.
- Laurent, C., Feidt C., Grova, N., Mpassi, D., Lichtfouse, E., Laurent, F., Rychen, G. (2002) Portal absorption of ¹⁴C after ingestion of spiked milk with ¹⁴C-phenanthrene, ¹⁴C-benzo(a)pyrene or ¹⁴C-TCDD in growing pigs. *Chemosphere* **48**, 843–848.
- Levy, J. I., Houseman, E. A., Spengler, J. D., Loh, P., Ryan, L. (2001) Fine particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbon concentration patterns in Roxbury, Massachusetts: a community-based gis analysis. *Environ. Health Persp.* **109**, 341-347.
- Lijinsky, W., Ross, A. E. (1967). Production of carcinogenic polynuclear hydrocarbons in the cooking of food. *Food. Cosmet. Toxicol.* **5**, 343-347.

- Madhavan, N. D., Naidu, K. A. (1995) Polycyclic aromatic hydrocarbons in placenta, maternal blood, umbilical cord blood and milk of Indian women. *Hum. Exp. Toxicol.* **14**, 503-506.
- Maliszewska-Kordybach, B. (1999) Sources, Concentrations, Fate and Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the Environment. Part A: PAHs in Air. *Pol. J. Environ. Stud.* **8**, 131-136.
- Mann, I., Meyer-Vernet, N., Czechowski, A. (2014) Dust in the planetary system: Dust interactions in space plasmas of the solar system. *Phys. Rep.* **536**, 1–39.
- Manoli, E., Samara, C. (1999) Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. *TRAC-Trend. Anal. Chem.* **18**, 417-428.
- Mattison, D. R., Schulman, J. D. (1980) How xenobiotic compounds can destroy oocytes. *Contemp. Obstet. Gynec.* **15**, 157.
- MELP-BC (1993) Ambient Water Quality Criteria For Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). MELP-BC - Ministry of Environment, Lands and Parks Province of British Columbia, http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/BCguidelines/pahs/pahs-05.htm#P2484_74893. Pristupljeno 6. travnja 2016.
- Nadal, M., Schuhmacher, M., Domingo, J. L. (2004) Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County. *Environ. Pollut.* **132**, 1–11.
- Narsi, R., Bishnoi, Mehta, U., Sain, U., Pandit, G. G. (2005) Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea and coffee samples of Mumbai city (India) by high-performance liquid chromatography. *Environ. Monit. Assess.* **107**, 399–406.
- NCBI (1983) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Evaluation of Sources and Effects. NCBI - Committee on Pyrene and Selected Analogues, Board on Toxicology and Environmental Health Hazards, Commission on Life Sciences, Division on Earth and Life Studies, Washington (DC): National Academies Press (US)
- Nisbet, I. C. T., LaGoy, P. K. (1992) Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regul. Toxicol. Pharm.* **16**, 290-300.
- Norman, R., Barnes, B., Mathee, A., Bradshaw, D. (2007) Estimating the burden of disease attributable to indoor air pollution from household use of solid fuels in South Africa in 2000. *S. Afr. Med. J.* **8**, 764-71.

- NRC (1983) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Evaluation of Sources and Effects. NRC - National Research Council (US) Committee on Pyrene and Selected Analogues, Washington (DC): National Academies Press (US).
- Obana, H., Hori, S., Kashimoto, T., Kunita, N. (1981). Polycyclic aromatic hydrocarbons in human fat and liver. *B. Environ. Contam. Tox.* **27**, 23-27.
- Orecchio, S., Paradiso Ciotti, V., Culotta, L. (2009) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC–MS, profile, levels and sources. *Food Chem. Toxicol.* **47**, 819-826.
- Perera, F. P., Wang, S., Vishnevetsky, J., Zhang, B., Cole, K. J., Tang, D., Rauh, V., Phillips, D. (2011) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons–Aromatic DNA Adducts in Cord Blood and Behavior Scores in New York City Children. *Environ. Health Persp.* **119**, 1176-1181.
- Phillips, D. H. (1999) Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutat. Res.* **443**, 139-147.
- Pratt, M. M., John, K., MacLean, A. B., Afework, S., Phillips, D. H., Poirier, M. (2011) Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Exposure and DNA Adduct *Semi*-Quantitation in Archived Human Tissues. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **8**, 2675-2691.
- Preuss, R., Anderer, J., Drexler, H. (2003) Naphthalene—an environmental and occupational toxicant. *Int. Arch. Occ. Env. Hea.* **76**, 556-576.
- Ravindra, K., Sokhi, R., Van Grieken, R. (2008) Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmos. Environ.* **42**, 2895–2921.
- Saint-Aubert, B., Cooper J. F., Astre C., Spiliotis J., Joyeux, H. (1992) Evaluation of the different types of barbecue. *J. Food Compos. Anal.* **5**, 257-263.
- Sartorelli, P., Cenni, A., Matteucci, G., Montomoli, L., Novelli, M. T., Palmi, S. (1999) Dermal exposure assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons: in vitro percutaneous penetration from lubricating oil. *Int. Arch. Occ. Env. Hea.* **72**, 528-532.
- SCF (2002) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons – Occurrence in foods, dietary exposure and health effects. SCF- Scientific Committee on Food, European Commission, <http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out154_en.pdf>. Pristupljeno 5. kolovoza 2016.

- Seo, J., Keum, Y., Li, Q. X. (2009) Review: Bacterial Degradation of Aromatic Compounds. *Int. J. Environ. Res.* **6**, 278-309.
- Silvia A.V., Tfouni, S. A. V., Serrate, C. S., Leme, F. M., Camargo, M. C. R., Teles C. R. A., Cipolli K. M. V. A. B., Furlani, R. P. Z. (2013) Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: Influence of roasting and brewing procedures in two *Coffea* cultivars. *Food Sci. Technol-LEB.* **50**, 526-530.
- Somogyi, A., Beck, H. (1993) Nurturing and breast-feeding: exposure to chemicals in breast milk. *Environ. Health Persp.* **101**, 45–52.
- Stogiannidis, E., Laane, R. (2015) Source characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons by using their molecular indices: an overview of possibilities. *Rev. Environ. Contam. T.* **234**, 49-133.
- Tang, X. Y., Tang, L., Zhu, Y. G., Xing, B. S., Duan, J., Zheng, M. H. (2006) Assessment of the bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from Beijing using an in vitro test. *Environ. Pollut.* **140**, 279-285.
- Wang, H., Man, Y., Wu, F., Zhao, Y., Wong, C., Wong, M. (2010) Oral Bioaccessibility of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) through Fish Consumption, Based on an in Vitro Digestion Model. *J. Agr. Food Chem.* **58**, 11517-11524.
- Wild, S. R., Jones, K.C. (1995) Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget. *Environ. Pollut.* **88**, 91-95.
- Willis, A. M., Oris, J. T. (2014) Acute photo-induced toxicity and toxicokinetics of single compounds and mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons in zebrafish. *Environ. Toxicol. Chem.* **33**, 2028-2037.
- Yang, H.-H., Lee, W.-J., Chen, S.-J., Lai, S.-O. (1998) PAH emission from various industrial stacks. *J. Hazard. Mater.* **60**, 159-174.
- Yu, H. (2012) Environmental carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons: Photochemistry and phototoxicity. *J. Environ. Sci. Heal. C.* **20**, 149-183.
- Zuelzer, W.W., Apt, L. (1949) Acute hemolytic anemia due to naphthalene poisoning. *J. Am. Med. Assoc.* **141**, 185-190.